

ABSORÇÃO/ADSORÇÃO DE CÁDMIO,  
CROMO E CHUMBO POR  
*Agaricus blazei*

BRUNA LETÍCIA BALDISSERA

Orientadora: Profa. Dra. DEJANIRA DE FRANCESCHI DE ANGELIS

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Microbiologia Aplicada).

Rio Claro  
Estado de São Paulo – Brasil  
Julho de 2007

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

## AGRADECIMENTOS

- Agradeço a minha Família, meus pais e minhas irmãs
- A Profa. Dra. Dejanira de Franceschi de Angelis
- Aos amigos da Unesp de Rio Claro
- Aos técnicos e professores do Departamento de Bioquímica e Microbiologia
- Ao Sr. Rubens Pellegrini
- Ao CNPq
- Ao Sr. José Rubens Chaddad Carvalho
- Ao Instituto de Biociências da Unesp de Rio Claro
- A Profa Dra. Sandra M. M. Franchetti

“ À minha família e amigos”

## ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS DO APÊNDICE.....	
ÍNDICE DE TABELAS.....	viii
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
1 - INTRODUÇÃO.....	12
2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	14
2.1 - Fungos: aspectos gerais .....	14
2.2 - <i>Agaricus blazei</i> .....	16
2.3 - Histórico de cultivo.....	20
2.4 - Procedimentos de cultivo .....	21
2.4.1 - Preparo do composto.....	21
2.4.2 - Inoculação de <i>Agaricus blazei</i> no composto.....	25
2.5 .....	29
Metais pesados.....	
2.6 - Interação entre metais e microrganismos.....	36
3 - MATERIAL E MÉTODOS .....	45
3.1 - MATERIAL .....	45
3.1.1 - Composto e solo de cobertura.....	45
3.1.2 - Contaminação por metais pesados.....	46
3.1.3 - Aditivos.....	46
3.1.4 - Local de instalação de cultivo.....	47

3.2 - MÉTODOS.....	48
3.2.1 - Isolamento do fungo.....	48
3.2.2 - Montagem dos experimentos.....	49
3.2.3 - Manutenção da umidade mediante regas.....	49
3.2.4 - Preparo e análise de basidiocarpos.....	50
4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	51
4.1 - Análise do solo de cobertura dos experimentos 1 e 2.....	51
4.1.2 - Análise do composto.....	52
4.1.3 - Frutificação.....	52
4.1.4 - Quantificação de metais pesados.....	53
4.1.5 - Quantificação de proteínas.....	55
4.1.5.1 - Quantificação de aminoácidos.....	55
4.2 - Experimento 3.....	56
4.2.1 - Análise do solo de cobertura.....	56
4.2.2 - Análise do composto.....	57
4.2.3 - Frutificação.....	57
4.2.4 - Quantificação de metais pesados.....	57
4.2.5 - Quantificação de proteínas.....	58
4.3 - Experimento 4.....	58
4.3.1 - Análise do solo de cobertura.....	58
4.3.2 - Análise do composto.....	59
4.3.3 - Frutificação.....	60
4.3.4 - Quantificação de metais pesados.....	60
4.3.5 - Quantificação de proteínas.....	61
4.4 - Quantificação de metais pesados em cultivos comerciais.....	61
4.5 - Espectroscopia de infravermelho.....	63

5 - CONCLUSÕES.....	65
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66
7 - APÊNDICE.....	81
ANEXO I.....	90
ANEXO II.....	91

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 - Percentual da composição geral de <i>Agaricus blazei</i> .....	19
FIGURA 2 - Aspecto do composto comercial de <i>A. blazei</i> .....	46
FIGURA 3 - Aspecto do local de cultivo desprotegido de <i>A. blazei</i> após a cobertura com o solo no experimento 3.....	47
FIGURA 4 - (a) Frutificação de <i>A. blazei</i> em laboratório.....	48
FIGURA 4 - (b) Identificação do local na haste de onde se procedeu o isolamento das hifas para preservação da linhagem.....	48
FIGURA 5 – Indicação de como foram montados os experimentos: (a) Espalhamento do solo sobre o composto colonizado.....	49
FIGURA 5 – (b) Disposição dos sacos contendo os metais e o controle.....	49
FIGURA 6 – Umidificação do solo com um aspersor de jato fino.....	50
FIGURA 7 – (a) Aspecto do micélio de <i>Agaricus blazei</i> ao redor dos grânulos do solo antes da frutificação.....	53
FIGURA 7 – (b) Primeiros basidiocarpos do cultivo 2.....	53
FIGURA 8 - Composição de aminoácidos dos basidiocarpos controle do experimento 2.....	56
FIGURA 9 - Resultado da análise dos basidiocarpos controle do experimento 2 por FTIR.....	63
FIGURA 10 – Resultado da análise dos basidiocarpos contaminados com chumbo do experimento 2 por FTIR.....	64



## ÍNDICE DE FIGURAS DO APÊNDICE

FIGURA 11 – Temperaturas máximas e mínimas recolhidas para o experimento 1.....	81
FIGURA 12 - Amplitude térmica para o experimento 1.....	81
FIGURA 13 -. Temperaturas máximas e mínimas recolhidas para o experimento 2.....	82
FIGURA 14 – Amplitude térmica par o experimento 2.....	82
FIGURA 15 – Comparação entre as amplitudes térmicas dos experimentos 1 e 2.....	83
FIGURA 16 - Espectro FTIR para basidiocarpos contaminados com os três metais do experimento 2.....	84
FIGURA 17 – Espectro FTIR para basidiocarpos contaminados com cromo do experimento 2.....	84
FIGURA 18 – Espectros FTIR para basidiocarpos controle do experimento 3.....	85
FIGURA 19 - Espectros FTIR para basidiocarpos contaminados com chumbo para o experimento 3.....	85
FIGURA 20 - Espectros FTIR para basidiocarpos contaminados com cromo para o experimento 3.....	86
FIGURA 21 - Espectros FTIR para basidiocarpos contaminados com os três metais para o experimento 3.....	86
FIGURA 22 – Espectros FTIR para basidiocarpos controle do experimento 4.....	87
FIGURA 23 – Espectros FTIR para basidiocarpos contaminados com chumbo para o experimento 4.....	87
FIGURA 24 – Espectros FTIR para basidiocarpos contaminados com cromo para o experimento 4.....	88
FIGURA 25 – Espectros FTIR para basidiocarpos contaminados com os três metais para o experimento 4.....	88
FIGURA 26 – Espectros FTIR para basidiocarpos contaminados com cádmio para o experimento 4.....	89

## ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1 – Conteúdo de minerais e vitaminas contidas em <i>Agaricus blazei</i> .....	18
TABELA 2 – Cronograma e fases do cultivo de <i>Agaricus blazei</i> .....	28
TABELA 3 – Teores de chumbo, cádmio, cromo: ingestão diária máxima tolerada em adultos.....	31
TABELA 4 – Fontes de metais tóxicos no ambiente (ROSS, 1994).....	35
TABELA 5 – Esquema geral de quais solos e compostos foram utilizados nos experimentos 1; 2; 3 e 4.....	45
TABELA 6 – Análise do solo segundo ICASA usado como cobertura nos cultivos de <i>A. blazei</i> nos experimento 1 e 2.....	51
TABELA 7 – Total de metais pesados (ppm) disponíveis para o fungo no experimento 1 e 2.....	52
TABELA 8 – Produção de basidiocarpos (g) de <i>A. blazei</i> nos experimentos 2; 3 e 4.....	53
TABELA 9 – Quantificação de metais pesados (ppm) e porcentagem (%) de acúmulo de metais nos cogumelos dos diferentes sacos do experimento 2.....	54
TABELA 10 – Porcentagem total de proteínas dos cogumelos no experimento 2.....	55
TABELA 11 – Análise do solo de cobertura usado no experimento 3.....	56
TABELA 12 – Quantificação dos metais (ppm) disponíveis para <i>A. blazei</i> no experimento 3.....	57
TABELA 13 – Quantificação de metais pesados (ppm) e porcentagem (%) de acúmulo de metais nos cogumelos dos diferentes sacos do experimento 3.....	58

TABELA 14 – Análise do solo de cobertura usado no experimento 4.....	59
TABELA 15 – Quantificação dos metais (ppm) disponíveis para o fungo no experimento 4.....	59
TABELA 16 – Quantificação de metais pesados (ppm) e porcentagem (%) de acúmulo de metais nos cogumelos dos diferentes sacos do experimento 3.....	60
TABELA 17 – Total de metais disponíveis para acúmulo, teores encontrados nos basidiocarpos e taxa de acúmulo (%) de metais pesados nos basidiocarpos analisados de 3 cultivares A; B e C.....	61

## RESUMO

### ABSORÇÃO/ADSORÇÃO DE CÁDMIO, CROMO E CHUMBO POR *Agaricus blazei*

*Agaricus blazei* é uma das espécies de fungo do grupo basidiomiceto nativo do Brasil, popularmente conhecido como “cogumelo-do-sol<sup>®</sup>”. O Brasil é considerado um grande fornecedor desse fungo para o mercado internacional cujos padrões de qualidade são bastante restritivos em relação à concentração de metais pesados, principalmente cádmio. Esse fungo possui propriedades medicinais e seus cogumelos são consumidos por grande número de pessoas que procuram melhorar a qualidade de vida. O trabalho objetivou estudar o acúmulo de cádmio, cromo e chumbo por *A. blazei*. Foram realizados 3 experimentos, utilizando 2 tipos de composto e 3 tipos de solo para cobertura. O fungo foi cultivado em sacos de plástico preto contendo no fundo o composto inoculado, tendo como cobertura diferentes tipos de solo. O solo e o composto foram analisados para quantificação de Cd, Cr, Pb por espectrometria de absorção atômica, propriedades físicas e químicas (Instituto Campineiro de Análise de Solo e Adubo – ICASA). Além das quantias de metais encontradas no solo e no composto foram adicionados 66 mg de cloreto de cádmio, 132 mg de sulfato de cromo e 12 mg de nitrato de chumbo ao solo de cobertura. Após a frutificação, os basidiocarpos foram analisados para quantificar proteínas, aminoácidos, metais pesados e identificação de modificações protéicas por espectroscopia de infravermelho (FTIR). O resultado das análises demonstrou que havia acúmulo de metais pesados nos basidiocarpos, ocorrendo maior percentual nos contaminados com cádmio. Além disso, detectou-se nos basidiocarpos contaminados menor teor de proteínas. Através de FTIR não foi possível detectar alterações nas proteínas nos basidiocarpos analisados.

## ABSTRACT

### ABSORPTION/ADSORPTION OF CADMIUM, CHROMIUM AND LEAD BY *Agaricus blazei*.

*Agaricus blazei* is a basidiomycete fungus native from Brazil and popularly known as “Cogumelo-do-sol<sup>®</sup>” – the “sun-mushroom”. Brazil is a supplier of this edible mushroom to international markets to which quality standards are very restrictive regarding the concentration of heavy metals, especially cadmium. This fungus exhibits medicinal properties and its fruiting bodies are consumed by a large number of people that seek to improve life quality. The objective of this work was to study the accumulation of cadmium, chromium and lead by *A. blazei*. Three experiments were made using two composts and three types of covering soil. The fungus was cultivated in black plastic bags contained in the deep inoculated compost and as covering different types of soils. The soil and the compost were analyzed to determine the amount of heavy metals: Cd, Cr and Pb by atomic absorption spectrophotometer, and physical and chemical properties (ICASA). Besides the metal found in the soil and compost, 66 mg of cadmium chloride, 132 mg of chromium sulfate and 12 mg of lead nitrate were also added to the covering soil. After fructification, the fruiting bodies were analyzed to measure the amount of raw proteins, amino acids, heavy metals and proteinic modifications for Spectroscopy of Infra Red (FTIR). The analyses of results showed accumulation of heavy metals in fruiting bodies, occurring a higher percentage in fruiting bodies contaminated of cadmium. Furthermore detected in contaminated fruiting bodies a less drift of raw proteins. Through FTIR was not possible to detect alteration in proteins of fruiting bodies analyzed.

## 1 - INTRODUÇÃO

Os cogumelos são fungos conhecidos desde a antiguidade quando o homem já os utilizava como alimento de elevado valor nutritivo e terapêutico. No entanto, na natureza, existem centenas de espécies diferentes de cogumelos; alguns são venenosos, outros alucinógenos e também existem aqueles que possuem propriedades medicinais curativas e até afrodisíacas.

Estima-se que o primeiro cultivo intencional de cogumelos tenha ocorrido por volta do século VI, há 1400 anos. A primeira espécie a ser cultivada foi *Auricularia auricula*, em seguida, 200 a 300 anos mais tarde, *Flamulina velutipes* e logo após *Lentinula edodes* (Shitake), há cerca de mil anos na China.

Recentemente, o cogumelo do gênero *Agaricus*, também chamado popularmente de “Cogumelo do Sol<sup>®</sup>” (*Agaricus blazei*), vem sendo relatado como um produto com propriedades medicinais, despertando grande interesse da comunidade médica e científica de instituições no Brasil e em outros países. Este cogumelo tem sua origem nas regiões serranas da Mata Atlântica brasileira e segundo relatos de produtores, a espécie nativa foi coletada inicialmente no Brasil por um agricultor que a cultivou, primeiramente, entre as décadas de 60 e 70.

Além de propriedades nutricionais, os fungos podem ser empregados na recuperação de ambientes degradados ou reter componentes durante o tratamento de efluentes e eventualmente o reaproveitamento dos resíduos, diminuindo a carga poluidora lançada nos ecossistemas.

Do ponto de vista etnológico, o povo brasileiro pode ser considerado não micófilo, uma vez que não demonstra tendência inata, interesse ou grande atração pelos fungos. No entanto, o Brasil tem sido grande fornecedor de *A. blazei* para o Japão. Os padrões de qualidade quanto a teores de metal pesado exigidos no mercado internacional são muito rigorosos, quanto menor a quantidade desses metais nos basidiocarpos maior valor comercial o produto atinge.

Esse cogumelo também proporciona oportunidades de cultivos economicamente viáveis, que podem trazer benefícios para um local, uma região, um país. No caso do Japão, essa atividade movimentou um mercado crescente desde 1995 de cerca de US\$ 600 milhões. O cultivo tem sido uma alternativa de investimento com retorno econômico relativamente rápido para produtores; os consumidores, por sua vez, são atraídos pela possibilidade de uso deste cogumelo como agente auxiliar no tratamento de doenças; alguns pesquisadores desenvolvem tecnologias de cultivo, enquanto outros vêm obtendo resultados promissores nas áreas de imunologia, radio proteção e fitopatologia.

Esse exemplar da biodiversidade brasileira é um novo produto agrícola em expansão no Brasil e no mundo e necessita que técnicas de produção e de pesquisas sejam incrementadas, a fim de proporcionarem benefícios para quem produz, para quem consome e para quem pesquisa.

Os metais pesados podem ser considerados como poluentes do ambiente. Dentre os metais pesados, o cádmio, juntamente com chumbo e o mercúrio, são os elementos que mais têm despertado a atenção dos pesquisadores devido à toxidez, e a recente penetração nos ecossistemas, como resultado do desenvolvimento tecnológico. As matérias-primas provenientes de solos pobres em nutrientes, que sofrem correção com adubos podem conter quantidades apreciáveis de cádmio e transportá-lo para o processo fermentativo.

Sendo assim, o enfoque deste trabalho foi verificar se o fungo *A. blazei* tem a capacidade de acumular em seus basidiocarpos metais pesados como cádmio, chumbo e cromo.

## 2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 - Fungos: aspectos gerais

Os fungos são entidades biológicas heterotróficas, dependem, portanto, da matéria orgânica já sintetizada para sua sobrevivência. Existem formas simbiotes, parasitas e sapróbias, sendo estas últimas as de maior interesse para a ciclagem dos nutrientes nos ecossistemas. Atribui-se aos fungos a responsabilidade primordial pela decomposição e mineralização da matéria orgânica na natureza (CHRISTENSEN, 1989).

Os cogumelos, como outros fungos, são organismos aclorofilados, não possuem clorofila. Esses organismos não são capazes de converter a energia solar em matéria orgânica como as plantas, mas podem converter enormes quantidades de materiais lignocelulósicos, considerados resíduos agrícolas ou florestais, em alimento humano, ração para animais e fertilizantes (HERRERA, 2001).

Segundo BRAGA et al. (1998), a reprodução dos fungos pode ser sexuada ou assexuada. Resumidamente, na reprodução assexuada dos basidiomicetos ocorre a germinação dos esporos (originados dos basídios localizados nas lamelas) que produzem células que se arranjam em filamentos haplóides, denominadas micélio primário.

A fusão do citoplasma ocorre quando hifas sexualmente diferentes, porém compatíveis, encontram-se, resultando em células dicarióticas que formam o micélio secundário.



Um estímulo físico, químico e/ou biológico pode desencadear o processo de formação dos corpos de frutificação onde acontece então, a fusão dos núcleos das células dicarióticas, resultando em um núcleo único, diplóide. Ocorre uma redução meiótica neste núcleo que resulta na formação de quatro novos núcleos haplóides (basidiósporos).

Quanto a sua nutrição, os fungos precisam ter carbono disponível, que obtém de carboidratos provenientes dos polissacarídeos. Esta obtenção é devido aos sistemas enzimáticos hidrolizantes que os fungos possuem que transformam as macromoléculas em monossacarídeos, pentoses, hexoses, que são fontes de carbono de ocorrência natural. Na natureza a primeira matéria-prima a ser utilizada pelos fungos é a celulose, seguida de hemicelulose e finalmente a lignina.

A utilização do carbono vai depender do pH existente no meio. Pequenas diferenças podem ocasionar um efeito significativo no metabolismo do carbono, assim um aumento no pH estimula a utilização da D-Glucose. Outro elemento indispensável para o crescimento dos fungos é o nitrogênio, que atua tanto funcionalmente quanto estruturalmente, uma vez que, 6,4% do peso seco do micélio equivale a esse elemento. No solo e no composto existem quatro formas de nitrogênio, o gás ( $N_2$ ), nitrato, sais de amônia e nitrogênio orgânico (BOHUS, 1959).

Na atualidade, conhecem-se cerca de 600 espécies de fungos comestíveis, dentre elas, 50 a 100 podem oferecer boas perspectivas para serem usadas em cultivos comerciais.

O hábito de usar fungos na alimentação foi introduzido no Brasil pelos europeus através de sua culinária (FIDALGO e GUIMARÃES, 1985). Com o decorrer do tempo e a divulgação do produto entre a classe média, o interesse pelo cogumelo tem aumentado gradativamente e em consequência o número de cultivadores e a produção vem crescendo sobremaneira (TANGO, 1985).

Além do excelente valor nutritivo, têm sido atribuídas aos cogumelos comestíveis propriedades medicinais no tratamento de diversas enfermidades, sobretudo no uso conjunto de terapias contra tumores cancerígenos. Neste sentido, estudos científicos sobre agentes antitumorais têm tido progressos a partir de polissacarídeos extraídos de cogumelos (CHIHARA, 1978; CHANG e MILES, 1989; MIZUNO et al., 1990; HOBBS, 1995).

HERRERA (2001) cita a lógica dos efeitos da potencialização do sistema imunológico pelos fungos observando o ciclo de vida desses organismos. Segundo o autor, os fungos ocupam escalas inferiores nos ecossistemas e desenvolvem-se em materiais deteriorados, considerados ambientes hostis. Durante a fase vegetativa ou micelial, excretam enzimas para digerir os nutrientes contidos nos materiais em decomposição, contudo, antes de absorver esses nutrientes faz-se necessário desativar seus patógenos naturais. Por isso, são hábeis em expelir substâncias químicas indesejáveis e contaminantes, que são absorvidos durante a digestão.

Estudos realizados com cobaias em laboratório demonstram que polissacarídeos do tipo  $\beta$ -glucanas extraídos dos corpos de frutificação de uma nova espécie de fungo, conhecido popularmente como “Cogumelo do Sol<sup>®</sup>”, apresenta indicações de controle de tumores tipo Sarcoma 180 (MIZUNO et al., 1990; KAWAGISHI et al., 1990; ITOH et al., 1994; OSAKI et al., 1994).

Os polissacarídeos são as macromoléculas mais abundantes em alguns materiais biológicos. Os mais conhecidos são a celulose, amido e seus derivados como quitina e gomas extraídas de vegetais e algas. Desempenham papel estrutural, energético, de adesão e proteção (OOI e LIU, 2000).

A atividade antitumoral é exibida por uma grande classe de glicanos, a qual se estende de homopolímeros até heteropolímeros complexos. Estas diferenças na atividade podem estar correlacionadas com a solubilidade em água, tamanho das moléculas, proporção de ligação e forma. Devido a estes fatores, torna-se difícil correlacionar a estrutura e a atividade antitumoral de polissacarídeos complexos (WASSER, 2002; JONG e DONOVICK, 1989).

## 2.2 - *Agaricus blazei*

Quanto aos aspectos biológicos, o fungo *Agaricus blazei* é classificado taxonomicamente segundo WITTAKER (1959) como pertencente ao reino *Fungi*, divisão *Basidiomycota*, ordem *Agaricales* e família *Agaricaceae*, identificado por Murill em 1945. Porém, constatou-se na análise de dados relativos ao isolamento de linhagens de várias regiões do Brasil que estas diferiam das examinadas por Murill, sendo estas últimas nativas da Flórida, Estados Unidos.

*Agaricus blazei* é enquadrado, segundo BONONI et al. (1999), como fungo sapróbio, pois coloniza a matéria orgânica em decomposição.

Segundo HAYES (1978), os requerimentos nutricionais são diferentes durante a fase vegetativa (micélio) e reprodutiva (corpos de frutificação), o fungo usa a celulose e hemicelulose são durante os estados iniciais do crescimento e a lignina durante o estado vegetativo.

Quanto às condições ambientais, *A. blazei* é encontrado naturalmente no sudeste do Estado de São Paulo, nas encostas do lado oeste da Serra do Mar, onde a temperatura varia de 23-28 °C, e a umidade é elevada no período primavera-verão-outono. Ele emerge no campo, a céu aberto, e pode ser encontrado em pátios junto a esterco de cavalo e mures (FERREIRA, 1998). A frutificação ocorre, naturalmente, na primavera, com o início das chuvas e temperaturas de 23 a 27 °C e deve haver a incidência de luz durante o período de colheita (TEIXEIRA, 1999).

Ao entrar na fase reprodutiva, tanto *A. blazei* quanto *A. bisporus* têm a produção de cogumelos distribuída em picos de colheita, que também são chamados de floradas, frutificações ou fluxos, e acontecem até o total esgotamento do composto.

FLEGG (1985) relacionaram estudos de vários autores sobre os elementos essenciais importantes para o crescimento de *Agaricus bisporus* definindo duas classes: macro e micronutrientes. No primeiro grupo está incluído o cálcio, magnésio, fósforo, potássio e enxofre. No segundo, o chumbo, ferro, manganês, molibdênio e zinco.

Os macronutrientes em baixas concentrações permitem um bom desenvolvimento, no entanto, se ocorrerem em altas concentrações podem inibir o crescimento dos corpos de frutificação. Esses nutrientes além de serem importantes na formação da estrutura são imprescindíveis nos processos metabólicos. Assim, a presença de certos íons inibe o efeito de outros, seja pelo efeito tóxico ou pela baixa concentração (BOHUS, 1959).

O fungo *A. blazei* tem várias propriedades terapêuticas, dentre elas, a antitumoral e anticancerígena, graças a polissacarídeos, esteróides naturais, compostos protéicos,  $\beta$ -D-glucana que quando ingeridos melhoram a atividade macrofágica dos glóbulos brancos.

Segundo DENADAI et al. (1999), o extrato de *Agaricus blazei* em certas circunstâncias exibe atividades antimutagênicas que podem contribuir para um efeito anticarcinogênico.

DELÚ (2003) observou que há uma relação inversa entre as concentrações de aminoácidos livres e proteínas solúveis totais em basidiocarpos de *Agaricus blazei*. A mesma autora observou por análises bioquímicas que o escurecimento dos basidiocarpos resulta numa menor fração glicídica e de açúcares redutores.

Os cogumelos são alimentos de alta qualidade, baixa caloria, alto teor de proteínas, minerais, fibras e aminoácidos essenciais, como mostrado na Tabela 1. Alguns estudos sugerem que os cogumelos sejam probióticos, ou seja, por meio da manutenção da homeostase fisiológico ajudam o organismo a se fortalecer contra doenças (BEINFELD, 1997).

Tabela 1 - Conteúdo de minerais e vitaminas contidas em basidiocarpos de *Agaricus blazei*

Minerais (mg)	100g/desidratado (mg)
Fosfato	830
Ferro	6,94
Cálcio	10,5
Sódio	6,6
Potássio	2,52
Magnésio	76,3
Cobre	5,64
Zinco	7,42
Manganês	0,638
Cobalto	0,2 ppm
Cloro	537
Silício	24 ppm
Alumínio	19 ppm
Enxofre	0,3

Fonte: FDA (2000); Pedroso e Tamai (2001)

Vitaminas	FDA (mg)	PEDROSO e TAMAI (mg)
B1	0,84	0,52
B2	3,38	3,07
D2	90 UI	-
Ác. patotênico	20,6	-
Biotina	0,065	-
Inositol	270	-
Niacina	34,1	44,2
Colina	34,1	383,0
Ergosterol	370	-

Fonte: FDA, 2000

O valor nutritivo dos cogumelos é superior ao de diversas hortaliças. Seu conteúdo em proteínas é relativamente alto, alcançando de 1,5 % a 6% de sua massa fresca, de acordo com as diferenças entre espécies.

A idade, o ambiente, o local e a natureza do substrato de cultivo também influenciam seu conteúdo protéico. Geralmente, os cogumelos jovens são mais ricos em proteínas que os mais maduros ou abertos (BRAGA et al., 1998).

O baixo teor de gordura, mostrado na fig.1, é considerado altamente importante uma vez, que algumas doenças endêmicas de nossa época estão relacionadas à obesidade. O alto teor de fibras é atribuído à presença de hemicelulose, quitina e substâncias semelhantes à pectinatos (LEVAI, 1989). Foi observado que mais de 1 % da cinza dos cogumelos é de origem mineral, valor mais alto do que o encontrado em frutas e vegetais (FLEGG, 1985).

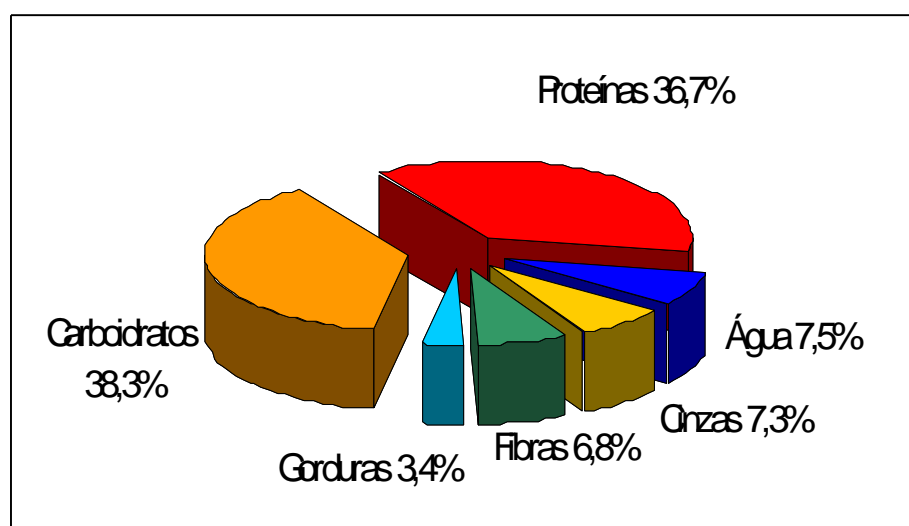


Fig. 1 - Percentual da composição geral de *Agaricus blazei*.

O principal componente mineral do fungo é o potássio, mas congrega ainda, fósforo, magnésio, cálcio, sódio, cobre, boro, zinco, ferro, manganês e molibdênio (PEDROSO e TAMAI, 2001).

Além de minerais, os basidiocarpos de *A. blazei* apresentam grande quantidade de aminoácidos, congregando todos os tipos de aminoácidos essenciais importantes para um bom funcionamento do organismo.

### 2.3 - Histórico de cultivo

Os cogumelos são fungos existentes na natureza, sendo conhecidos e apreciados há mais de dois mil anos, quando gregos e romanos os consideravam como alimento especial (QUIMIO et al., 1990).

O cultivo mais antigo de que se tem notícia é o do champignon ou fungo de estábulos, feito na França de forma casual, por volta do ano de 1650 quando cultivadores de melão da região de Paris iniciaram o cultivo (DELMAS, 1978).

Ainda segundo o autor, a partir de 1910 foi implantado o uso de cultivo padrão que consiste em locais construídos em madeira ou alvenaria, onde paredes e tetos são bem isolados, com calefação através de canos de água quente, situados ao longo de paredes e a ventilação através de aberturas que arejavam o teto. Ao longo dos anos essa infraestrutura foi melhorando graças a centros de pesquisa e orientação instalados em diversos países europeus e nos Estados Unidos, com a participação do governo e dos produtores.

No Brasil, o cultivo de cogumelos restringe-se predominantemente a uma espécie, *Agaricus bisporus*. É a espécie mais cultivada no mundo e para a qual já existe uma tecnologia de cultivo e industrialização para os lugares de clima temperado (FIDALGO e GUIMARÃES, 1985). Esse cultivo iniciou-se no país devido à crise avícola de 1955 a 1959, quando criadores de galinha passaram a utilizar galpões de criação como casa de cultivo de cogumelos, sem maiores conhecimentos técnicos (MOLENA, 1985).

Recentemente, a espécie de cogumelo denominada *Agaricus blazei* vem despertando grande interesse comercial, principalmente para o mercado de exportação, cujo maior consumidor é o Japão. No Brasil, o preço pago ao produtor, por intermediários, varia de US\$100,00 a US\$150,00 dólares por quilograma de cogumelo desidratado. Estima-se que, aproximadamente, vinte toneladas de cogumelos desidratados foram produzidos na safra 96/97. Deste total, mais de 90% foram exportados para o Japão e uma pequena parcela para os EUA e Coréia (BRAGA et al., 1998).

Na década de 1950, esse cogumelo foi encontrado por imigrantes japoneses da região de Piedade, Estado de São Paulo; e por lembrar muito o “matsutake”, um cogumelo popularmente consumido no Japão, passou a fazer parte do hábito alimentar dos imigrantes daquela região.

Existem registros que, em meados dos anos 60, um grupo de pesquisadores da Universidade da Pensilvânia, chegou à região de Piedade - SP, motivado pela longevidade da população local.

Depois de alguns meses de estudo eles confirmaram que o consumo regular desse tipo de cogumelo era comum aos nativos, sendo um dos fatores que contribuía para o aumento da longevidade.

Em 1965, o Sr. Takehisa Furumoto, um agricultor da região, enviou algumas amostras desse cogumelo para Iwaide Fungology Institute, no Japão. Essa instituição foi o ponto de partida para a evolução das pesquisas sobre o cogumelo.

O Brasil foi o primeiro país a cultivar *A. blazei* e, após o falecimento do Sr. Furumoto, o cultivo desse cogumelo foi abandonado, porém, em 1990, alguns japoneses trouxeram do Japão algumas cepas e reiniciaram o cultivo nas regiões de Tapiraí, Mogi das Cruzes e Campinas.

## 2.4 - Procedimentos de cultivo

### 2.4.1 – Preparo do composto

FLEGG et al. (1985), citaram grande variedade de sistemas de cultivo, influenciados por fatores geográficos e econômicos encontrados nas diversas partes do mundo. Alguns exemplos são os sistemas em canteiros ao ar livre usados em Paris no século XVII, o sistema de canteiros cobertos, o sistema de estantes, bandejas, caixas e sacos plásticos.

Os procedimentos utilizados no cultivo de *Agaricus blazei* são adaptações dos utilizados para a espécie *A. bisporus* Lange e de outros. O preparo do substrato ou composto é uma das etapas críticas do ciclo de cultivo ou da adaptação de uma nova espécie ou linhagem. Apesar dos avanços obtidos na formulação de substratos para *A. bisporus*, a composição ideal do substrato para o cogumelo *A. blazei* ainda não está definida.

FIDALGO e GUIMARÃES (1985) ainda dizem que a produtividade do *A. blazei* é altamente dependente do substrato (composto) e da matriz (semente) usada no cultivo, bem como do controle das condições ambientais, tais como temperatura, ventilação, luz e umidade. KOPYTOWSKI et al. (2001) pesquisando o efeito da densidade da camada do composto (relação C/N inicial do composto em 27/1) alcançou produtividade em média de 9,5 % (massa fresca de cogumelos por massa fresca de composto) com densidade de 55 kg de composto por m<sup>2</sup>.

A compostagem, primeira etapa para o cultivo, pode ser definida como um processo complexo, com atividade microbiológica aeróbia e anaeróbia, baseado na termogênese microbiana, que visa a bioestimulação do resíduo com seletividade por biotase para o cogumelo e desfavorável às espécies competidoras (LEVANON et al., 1988; EIRA e MINHONI, 1997; CELSO, 1999). Propriedades físicas e químicas do substrato, relativas a permeabilidade para trocas gasosa, retenção de umidade, pH, nitrogênio orgânico e concentração final de amoníaco, são fatores que interferem na qualidade do composto (EIRA e MINHONI, 1997).

KOPYTOWSKI (2002) observou que a produtividade não diferia significativamente em relação a diferentes fontes nitrogenadas (farelo de soja e uréia), independentemente das relações carbono/nitrogênio iniciais do composto, obtendo melhores resultados quando utilizado 1,5/L.

O material básico usado como fonte de carbono na elaboração do composto para o cultivo de cogumelos comestíveis é a palha de cereal, como trigo, centeio e cevada. Destes materiais é preferida a palha de trigo devido à natureza elástica, característica que ajuda a promover estrutura ao composto, com obtenção de melhores resultados (BOHUS, 1959).

Materiais como palha de aveia e cevada tendem a encharcar o composto, criando condições anaeróbias dentro da pilha. Outras palhas são mais resistentes à decomposição, tornando o processo de compostagem bem mais longo.

A qualidade do composto é afetada por vários fatores, entre os quais, natureza dos materiais, tempo, tamanho da pilha, frequência das viradas, umidade e densidade. Um composto degradado produz condições anaeróbias e o seu conteúdo de umidade poderá inibir a colonização do micélio.



A padronização do composto é imprecisa devido ao tempo de “compostagem”. Um teste para determinar a qualidade do composto é mediante análise de nitrogênio, nível de amônia e nematóides, cujos parâmetros não são determinantes no potencial de produtividade (CORMICAN e STAUNTON, 1991).

Segundo DERIKX et al. (1989), a alta qualidade do composto é obtida quando este sofre uma compostagem intensa, com baixo teor de oxigênio e temperaturas de 75 a 80 °C. Neste caso o composto deve ser empilhado densamente para dificultar a passagem do ar, e com alta umidade.

A demanda de oxigênio no início da compostagem é muito alta porque os microrganismos crescem rapidamente pela liberação de nutrientes solúveis da matéria vegetal, utilizando todo oxigênio disponível no composto em aproximadamente três horas.

O método de compostagem usualmente utilizado para *A. bisporus* e *A. blazei* é o método de compostagem curta (*Short Composting*), desenvolvido por SIDEN e HAUSER na década de 50 (LABORDE et al., 1993) e pode ser definida como uma decomposição aeróbia de substratos orgânicos em condições que permitam atingir temperaturas suficientemente elevadas para o crescimento de microrganismos termófilos (citado por HERRERA, 2001); a compostagem curta compreende duas fases:

Compostagem FASE I: Consiste na mistura de materiais, amontoados, umedecidos, formando leiras, que são reviradas freqüentemente. Esta fase é desenvolvida dentro de um período de 7-14 dias (FERMOR et al., 1985).

O processo possui controle parcial, de modo que a temperatura e níveis de oxigênio no composto podem sofrer grandes variações, ou seja, 20-80 °C e 0-20 %, respectivamente. Como consequência deste controle parcial, aliado ao fato do processo não ser desenvolvido em câmaras climatizadas, a compostagem nesta fase é dita como ineficiente, acarretando poluição atmosférica, devido à produção de amônia e substâncias sulfurosas, além de excreção de chorume das leiras (DERIKX et al, 1990).

Compostagem FASE II: Compreende os estágios de pasteurização (6 - 8 horas a 60 °C) e condicionamento (6 - 9 dias, 45 a 50 °C e aeração de 20 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> ton<sup>-1</sup> de composto), em instalações fechadas, genericamente chamadas de “túneis”(FERMOR et al., 1985).

Ocorre um pico de aquecimento iniciado por leve vapor e fermentação termofílica aeróbia a temperatura de 50 °C, mantida pela entrada de vapor e do ar. O vapor acelera a eliminação de amônia e diminui o pH de 7.5 para 7.0 (HAYES, 1978).

Com a pasteurização e durante o condicionamento, estabelecem-se condições físicas e químicas à proliferação de comunidades de fungos e actinomicetos termófilos, que desempenharão papel de bioestabilizadores do composto, eliminando substâncias tóxicas, como amônia. Desta forma, os microrganismos ora presentes neste condicionamento tornam o substrato seletivo, ou seja, incrementam a cinética de crescimento do micélio do cogumelo, diminuindo o de microrganismos competidores, principalmente mesófilos celulolíticos (ROSS e HARRIS, 1983).

Novos métodos de compostagem enfatizam a importância microbiológica e a minimização de impacto ambiental da compostagem, combinam as fases I e II num sistema único, fechado, denominado tecnicamente de sistema “Indoor” de compostagem. Nesse sistema, o processo é reduzido, minimizando custos operacionais e perda da matéria. O controle da temperatura é realizado dentro da câmara, simulando os fenômenos das fases I e II. Há casos em que são inoculados microrganismos termófilos para otimização do processo; neste sentido, correlação positiva foi encontrada entre a população do fungo termófilo *Scytalidium thermophilum* no composto e o rendimento do cogumelo (ROSS e HARRIS, 1983).

O processo de compostagem em ambiente controlado é um sistema fechado, com objetivo de promover a rápida decomposição de substratos prontamente assimiláveis e possibilitar condições favoráveis para o desenvolvimento de cogumelos e ainda obter boa produtividade, com menor impacto ambiental.

O composto é preparado para inoculação de micélio em 6 a 8 dias com temperaturas médias de 54 °C no início do processo, seguido da diminuição em média para 47 °C.

A compostagem fase I pode ser corrigida pela fase II para compensar erros na formulação que ocorrem comumente por produtores de composto, devido à falta de dados sobre a composição dos substratos e/ou cálculos de concentração de nitrogênio, podendo resultar em compostos com produtividade satisfatórios.

Esta característica na produção de compostos oferece a possibilidade de utilizar algumas variações na formulação e manejo dos compostos sem comprometimento da produção de cogumelos (MILLER e MACAULEY, 1989).

SMITH (1979) considerou o método curto de compostagem como o mais eficiente e de produtividade maior. A produção de compostos preparados por esse método curto é o dobro quando comparado com o método longo.

Os componentes para produção de cogumelos podem ser agrupados em 3 classes: substratos tendo em sua composição grande parte formada por celulose, hemicelulose e lignina, neste sentido, como palhas, bagaço, trigo, arroz, entre outros. Estes substratos são de estrutura química complexa, tornando-se resistentes à decomposição, com grande parte de nutrientes indisponíveis de imediato para os microrganismos, como uréia, farelo de soja, sementes de algodão, tortas de resíduos da industrialização de produção de bebidas, etc.

Com exceção da uréia, estes substratos são chamados de ativadores do composto, por possuírem proteínas, gorduras e carboidratos prontamente disponíveis ao microrganismo para o processo de compostagem. Da mesma forma que estes nutrientes estão prontamente disponíveis, eles são relacionados como fontes precursoras da formação de odores, além do aumento da densidade de compostos; os condicionadores inorgânicos (gesso e calcário).

#### 2.4.2 – Inoculação do *A. blazei* no composto

A inoculação ou semeadura pode ser realizada de varias formas, segundo PASCHOLATTI et al. (1998). Sacos plásticos: o composto é colocado juntamente com o inóculo ou semente, à proporção de 1 a 2 % do peso do composto, em sacos de polietileno de 30 a 35 cm de altura e capacidade para 10 a 15 kg de composto. Os sacos são fechados para que ocorra o desenvolvimento de micélios.

A temperatura ambiente deve estar em torno de 28 °C e não há necessidade de luz. O período de incubação é de 25 a 35 dias, dependendo da temperatura ambiente. Cultivo em “camas”: a colocação do substrato é feita diretamente nas prateleiras e não no interior dos sacos plásticos.

A desvantagem desse método é a necessidade de inoculação no próprio local onde será feita a colocação do composto, o que, em casos de contaminação por outros microrganismos indesejáveis, poderá ocasionar a perda de toda “cama”.

Cultivo no solo: consiste no plantio do micélio colonizado em sacos plásticos em sulcos de 40 a 50 cm de largura, com profundidade mínima de 10 cm e espaçamento médio de 1m entre os canteiros.

Depois de plantados, os canteiros devem ser cobertos com 6 a 8 cm de terra peneirada, proveniente do subsolo, corrigida com calcário e o pH deve estar em torno de 7.

De acordo com BOLAÑOS (1993) a matriz pode ser elaborada a partir de grão de trigo, pelo fato de apresentar facilidade na sementeira e manter a umidade. Os grãos de trigo são pesados, lavados e fervidos por 15 minutos. Após a fervura foi acrescentada uma mistura de gesso e carbonato de cálcio na proporção 1:3. A adição de cálcio e gesso é necessária para ajustar o pH e facilitar a separação dos grãos na sementeira.

A cobertura do substrato é a etapa do cultivo em que se adiciona terra e/ou outro material sobre o substrato colonizado. Ela é responsável pela variação ambiental necessária para a mudança fisiológica no comportamento do micélio, que passa do estado vegetativo para o reprodutivo, ou seja, induz a formação de primórdios de basidiocarpos (HAYES et al., 1969; FLEGG, 1985; VEDDER, 1991), sendo, portanto, um dos fatores mais importantes na produtividade e uniformidade na colheita. A cobertura do substrato não é só um meio inerte ou reservatório de água para o micélio, mas um meio onde ocorrem inúmeras relações químicas (HAYES, 1978).

De acordo com mesmos autores, o preparo da camada de cobertura, o material deve ser escolhido cuidadosamente e de acordo com suas propriedades físicas e químicas como: capacidade de retenção de água; porosidade adequada; possuir microbiota benéfica; servir como fonte de nutrientes para o desenvolvimento dos cogumelos; possuir pH entre 7,0 e 7,5, e estar livre de insetos, nematóides e microrganismos competidores.

FLEGG (1985) acrescentam que a camada de cobertura deve favorecer a formação de gradientes de concentração de dióxido de carbono e possuir condição diferenciada de nutrientes com o substrato de cultivo.

Após a cobertura, a próxima etapa é aguardar a frutificação, a seguir procede-se com a colheita. Esta se inicia de 21 a 30 dias após o plantio. A produção pode se estender por até seis meses, mas é economicamente viável até o terceiro ou quarto mês.

Durante esse período, haverá situação máxima de produção, em média a cada 25 dias. Iniciada a colheita, a atenção deve ser diária, pois o desenvolvimento dos cogumelos não é uniforme.

Depois de colhido, o cogumelo deve ser lavado, pois parte da haste fica no solo junto às raízes e durante a colheita sempre acompanha o cogumelo certa quantidade de solo que deve ser retirada com o auxílio de jato de água, uma escova ou faca.

A desidratação deve ser realizada depois da colheita. Os cogumelos devem ser cortados ao meio, longitudinalmente e colocados cuidadosamente em bandejas. Em seguida, devem ser levados ao desidratador, onde serão submetidos a uma temperatura constante de 45 °C a 55 °C, por um período de 8 a 14 horas (PASCHOLATTI et al., 1998).

Enquanto que a formulação de substratos e os processos tornam-se cada vez mais sofisticados para a produção de *A. bisporus*, a composição ideal do substrato para *A. blazei* permanece desconhecida. As matérias-primas são constituídas por diversos tipos de fibras ligno-celulósicas, as quais são adicionadas de produtos nitrogenados, orgânicos e/ou minerais, para que a relação carbono/nitrogênio inicial seja de 25/1 a 30/1; ao final do processo de compostagem, esta diminui para 17, em média (EIRA e MINHONI, 1997).

A falta de tecnologia desenvolvida para o cultivo protegido de *A. blazei* tem levado a maioria dos produtores a praticar o sistema de cultivo desprotegido, ou seja, em canteiros a céu aberto submetendo, portanto a produção a maiores riscos em função das variações ambientais. Por outro lado, alguns produtores estão adotando o sistema de cultivo protegido, porém a maioria com índices de produtividade ainda muitos baixos e, portanto, economicamente insatisfatórios.

O cultivo de *A. blazei* pode ser dividido em seis fases distintas: compostagem (fase I e II); inoculação / colonização; cobertura do substrato; frutificação; colheita e processamento (EIRA, 2003).

A Tabela 2, desenvolvida por HERRERA (2001) mostra de modo simplificado todas as fases de cultivo de *Agaricus blazei*, a duração em dias e a finalidade de cada fase.

Tabela 2 - Cronograma e fases do cultivo de *A. blazei*

Média (dias)	Fases	Finalidade
21	1ª - Compostagem	Fase I Neutralizar bactérias termófilas e alguns fungos.
7		Fase II Pasteurização do composto para eliminar pragas.
14	2ª - Inoculação e colonização	Consiste na adição do micélio no composto. “Spawn” ou semente é o micélio vegetativo que cresce em grãos, “Spawning” é a colonização do micélio no composto.
14	3ª - Cobertura do substrato	Consiste em adicionar uma camada de cobertura de 5 a 6 cm, de terra de cobertura sobre o composto colonizado. O micélio coloniza a camada de cobertura uniformemente para alcançar a superfície. O processo de frutificação é acelerado pelo uso da terra de cobertura.
	4ª - Frutificação	Aparecimento dos primórdios, início da frutificação.
21 a 30	5ª - Colheita	A frutificação dos cogumelos ocorre em fluxos, com vários dias de pico intercalados por intervalos de menor intensidade. Num período de 30 dias de colheita, ocorrem em torno de 4 a 5 intervalos. A maior parte dos produtores realiza a colheita nos 3 primeiros fluxos, com objetivo de reduzir o risco de doenças.
	6ª - Processamento	Lavagem, corte, secagem e embalagem.

Fonte: HERRERA 2001

## 2.5 Metais pesados

A disponibilidade de metais pesados no ambiente tem aumentado em função da ação antrópica. Esses metais acumulam-se nos mais diversos pontos do ambiente e atingem todos os tipos de organismos, incluindo animais e vegetais (GABARDINO et al., 1995).

Além de propriedades nutricionais os fungos podem ser utilizados para remoção de resíduos de ambientes ou de outros produtos.

A remoção de metais pesados do ambiente requer métodos complexos que geralmente não surtem o efeito esperado, podendo ser realizado por microrganismos, tais como, fungos, leveduras, bactérias e algas. Segundo KAPPOR e VIRARAGHAVAN. (1995), o processo de remoção de metais pela biomassa pode ocorrer por um modo ativo, chamado de bioacumulação dependente do metabolismo ou por modo passivo como a biossorção.

As vantagens da utilização de microrganismos para remoção de metais é que estes são de fácil crescimento, produzem altos rendimentos de biomassa, podem ser manipulados geneticamente e morfológicamente e a biomassa pode ser proveniente dos processos fermentativos da indústria (AZAB ET et al., 1990).

Os metais pesados compreendem cerca de quarenta elementos que apresentam densidade superior ou igual a  $5\text{g/cm}^3$ . Essa generalização leva às inclusões, por exemplo, do ferro ( $d = 7,874\text{g/cm}^3$ ) e do manganês ( $d = 7,470\text{g/cm}^3$ ) na categoria de metais pesados, o que não está totalmente correto, pois o epíteto pesado é pensado para metais reconhecidos ou potencialmente tóxicos, como mercúrio, cromo, cobre, níquel e chumbo. O arsênio, com densidade de  $5,527\text{g/cm}^3$ , não é um metal, mas um metalóide que apresenta interesse ambiental pelo fato de ser tóxico (WHO, 2002a). Embora sua reputação seja a de um veneno, existem indícios de que seja necessário, como ultratrazo, para o metabolismo (WINTER, 2002). Esses metais têm recebido muita atenção da comunidade científica devido aos danos causados a uma variedade de organismos.

O mercúrio, chumbo e cádmio, os metais pesados mais estudados, definitivamente não são essenciais à vida, apresentam a característica de se acumularem nos tecidos biológicos e são os de maior interesse ambiental e toxicológico (CASTRO, 2002).

Segundo GOYER (1997), cádmio, chumbo, mercúrio e alumínio interagem metabolicamente com metais nutricionais essenciais, apresentando as seguintes correlações: deficiência em ferro aumenta a absorção de cádmio, chumbo e alumínio; o chumbo interage com o cálcio no sistema nervoso prejudicando o desenvolvimento cognitivo; cádmio e alumínio interagem com o cálcio no sistema esquelético produzindo osteodistrofia; o chumbo desloca e substitui o zinco na heme-enzimas.

Esses elementos atuam sobre a atividade de enzimas, substituindo íons em compostos orgânicos, modificando a permeabilidade da membrana plasmática, passos na cadeia respiratória, mecanismos de divisão celular e outros (FERNANDES e HENRIQUES, 1991). Estão direta ou indiretamente envolvidos em todos os aspectos do crescimento, metabolismo e diferenciação dos fungos.

Segundo ROSS (1975), os íons de metais essenciais aparecem associados com enzimas ativadoras. Podem estar frouxamente ligados (ligações iônicas) e agirem como elo entre enzimas e substratos ou firmemente ligados (ligações covalentes), como em metaloenzimas.

Em humanos e animais o órgão alvo da toxicidade do cádmio é o sistema renal, após a exposição por tempo prolongado. Os danos renais incluem proteinúria e um decréscimo na taxa de filtração glomerular o que resulta na diminuição da reabsorção de enzimas, aminoácidos, glicose, cálcio, cobre e fosfato inorgânico.

Segundo a FDA (2000) o consumo normal de alimentos leva a uma ingestão média de cádmio de 10 µg/pessoa/dia, sendo as principais fontes as verduras, batata, leite, e fígado; o hábito de fumar aumenta em mais 10 µg/pessoa/dia. O cádmio possui lenta excreção, tendo meia vida de 10 a 30 anos, e sugere-se que 55µg/pessoa/dia como a ingestão máxima tolerável.

A legislação brasileira estabelece o limite máximo de 1,0 mg/kg, para o cádmio em peixes destinados ao consumo humano (ANVISA, 1998). A tabela 3 foi adaptada e apresenta os teores de Pb, Cd, e Cr para ingestão diária máxima tolerada em adultos.

A toxicidade do cádmio foi constatada ser a causa da doença “Itai-Itai” no Japão, e está relacionada com problemas ósseos, causando fraturas múltiplas.

O cádmio tende a se acumular no corpo humano, ao redor de 30mg em média no homem americano (33% nos rins e 44% no fígado). O problema desse metal em seres humanos aparece porque a excreção é mínima, em relação ao que é absorvido, portanto o elemento tem efeito cumulativo.



Tabela 3 - Teores de chumbo, cádmio, cromo: ingestão diária máxima tolerada em adultos.

Elemento químico	Ingestão diária máxima através dos alimentos por pessoa adulta (mg/dia).	Limite máximo para contaminantes inorgânico sem alimentos ( $\text{mg kg}^{-1}$ ).	Problemas da saúde humana causados pelo excesso desses elementos.
Chumbo	0,43	0,80	Neurotóxico: ataca o cérebro e os rins, causa anemia, etc.
Cádmio	0,07	1,00	Hipertensão: danos no coração, rins e fígado.
Cromo	0,05 a 0,2	0,10	Tóxico, carcinogênico, etc.

A exposição ao cádmio pode ocorrer por inalação, alimentos contaminados e tabaco (GERHARDSSON e SKERFVING, 1996). Fígado e rins acumulam a maior parte de cádmio no organismo e sua eliminação é muito lenta. Pequenas proporções de cádmio podem ser distribuídas para outros órgãos, como pâncreas e testículos.

Embora o cádmio seja considerado um elemento relativamente raro (VALLE e ULMER, 1972), posteriormente, foi constatado que se encontra presente no ambiente em baixos níveis (VARMA, 1988).

Nos dias atuais a concentração de cádmio na crosta terrestre varia entre 0,15 e 0,20  $\text{mg.kg}^{-1}$ , sendo o 67º metal em abundância (MATTIAZZO-PREZOTTO, 1994).

As fontes primárias dos metais nos ecossistemas são as rochas abaixo da superfície do planeta. Na superfície, pode haver grandes variações na quantidade dos metais, principalmente pelo tipo de rocha do local, por forças atmosféricas, como vulcões e incêndios nas florestas, por forças bióticas, mediante a solubilização de metais e pela água (TOMSETT, 1993).

O cromo e o níquel são utilizados em vários processos industriais. Os trabalhadores que lidam com essas substâncias têm risco relativo para o câncer do pulmão de aproximadamente 4% (MAHLER e DEFONSO, 1987).

Na maioria dos estudos sobre bioabsorção de íons metálicos, os mesmos são removidos de uma solução na forma de cátions, uma vez que a maioria dos metais existe numa solução na forma catiônica. Entretanto, alguns metais podem existir em solução tanto como cátion ou ânion, dependendo do estado de valência do metal. O cromo é um exemplo deste tipo de metal, sendo que o ânion  $\text{CrO}_4^{2-}$  (Cr (VI)) é altamente tóxico.

A remoção de cromo (VI) tem sido avaliada por vários pesquisadores com diferentes tipos de adsorventes, biológicos e não biológicos (SAG e KUTSAL, 1989; PANDAY et al., 1984; SHARMA e FORSTER, 1993; NOURBAKHSH et al. 1994). Em todos os casos o pH da solução tem influência grande na capacidade de remoção do cromo (VI), sendo que as maiores remoções de cromo foram obtidas a pH 2,0.

A temperatura exerceu menor influência, mas o aumento da temperatura (numa faixa de 25 a 45°C) provocou diminuição na capacidade de retenção nos vários adsorventes utilizados.

A biossorção de Cr (VI) ou sua redução para Cr (III), relativamente muito menos tóxico, por microrganismos são processos úteis na remediação de sólidos e águas contaminadas. Um grande número de bactérias, tanto aeróbias como anaeróbias, removem Cr (VI) de soluções reduzindo-o a Cr (III). Uma fração do Cr (VI) reduzido pode também ser retida pelas células.

O cromo está presente em concentrações razoáveis na grande quantidade de efluentes gerada pelas indústrias de couro. Apesar dos altos teores de matéria orgânica desse tipo de efluente, o mesmo não pode ser aproveitado para a fabricação de adubos ou ração animal em função dos efeitos tóxicos e mutagênicos do cromo.

KRATOCHVIL et al. (1998) utilizaram a biomassa da alga marinha *Sargassum* na forma protonada (com solução H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,2 M) e ligada ao cálcio (com solução de Ca(OH)<sub>2</sub>) na remoção de Cr (III).

A biomassa foi capaz de reter mais de 40 mg Cr(III)/g. A capacidade da biomassa foi dependente do pH da solução, sendo que para os pHs testados (1, 2 e 4) a biossorção de Cr(III) foi sempre maior em pH 4. Durante a determinação das isotermas o pH apresentava uma tendência de queda, atribuída à biossorção da espécie Cr(OH)<sup>2+</sup>, gerada pela hidrólise do cromo(III), com conseqüente liberação de prótons.

O mecanismo da remoção de Cr (III) foi avaliado usando-se a biomassa saturada com cálcio, em experimentos sem ajuste de pH, pela medida do Cr (III) biossorvido e do Ca<sup>2+</sup> liberado. A biossorção de um mol de Cr (III) foi acompanhada pela liberação de, em média, 1,1 moles de Ca<sup>2+</sup>. O pH da solução diminuiu de 4 para 3,3 a 3,8, dependendo da concentração do metal.

A estequiometria de 1,1 moles de íons cálcio liberados para cada mol de íons cromo retido, indicou que mais de 90% do cromo foi biossorvido como cátion divalente, isto é, provavelmente como Cr(OH)<sup>2+</sup>, e menos de 10% foi retido na forma de cátions Cr<sup>3+</sup>.

Outro metal intensamente estudado devido a sua toxicidade é o chumbo. Este metal é reconhecido pela Organização Mundial da Saúde como um dos elementos químicos mais perigosos para a saúde humana (WHO, 2002a).

Após a proibição parcial ou total da adição do chumbo tetraetil na gasolina em alguns países, a concentração do chumbo particulado no ar das zonas urbanas diminuiu, mas não determinou o desaparecimento do problema da poluição por esse metal (COCHRAN et al., 1998).

Outras fontes são responsáveis pela poluição atmosférica por chumbo particulado nas zonas industriais e urbanas, colocando em risco a saúde das populações. Em muitos países, o chumbo é o único metal cuja presença no ar é controlada por legislação (STERN, 1977).

A maior parte do chumbo entra no organismo humano pelas vias respiratórias e gastrintestinais. Após absorção, o chumbo pode ser encontrado no sangue, tecidos moles e mineralizados (ATSDR, 1999). O sítio primário de armazenamento de Pb no organismo são os ossos, que contém aproximadamente 95% do conteúdo corpóreo total do metal nos adultos, porém o significado toxicológico deste fato só foi entendido recentemente (SANÍN et al., 1998).

Em adultos, os ossos contêm cerca de 90% a 95% do conteúdo corpóreo total de chumbo, enquanto que 80% a 95% são encontrados nas crianças (HU, 1998). Embora a concentração de chumbo no sangue seja menor do que 2% do seu total presente no organismo, de 90% a 99,8% do metal estão ligados à membrana e a frações de proteínas (principalmente à hemoglobina, e em outras proteínas de baixo massa molecular) das células vermelhas (GOYER, 1997).

BERGDAHL (1997a) concluíram que a principal proteína de ligação ao chumbo era enzima ácido delta aminolevulínico desidratase (ALAD), sugerindo que a noção anterior de que, nos eritrócitos, o Pb se ligava primeiramente à hemoglobina deveria ser revista.

Nas proteínas obtidas dos eritrócitos lisados, além da maior afinidade do Pb pela ALAD, também foram identificadas ligações do chumbo com uma proteína de massa molecular de 45 kDa e com outra de massa menor do que 10 kDa. No entanto, nenhum chumbo ligado à hemoglobina foi detectado.

O chumbo inorgânico pode afetar uma série de sistemas, cuja grandeza das manifestações clínicas dependerá da intensidade, do tempo de exposição e da sensibilidade individual.

Tabela 4 - Fontes de metais tóxicos no ambiente (ROSS, 1994).

1 - Mineração metalífera e fundição	
• Resíduos empilhados e escórias: Contaminação por meio de intemperismo e erosão eólica.	As; Cd; Hg; Pb;
• Despejo de escórias nos rios: Depositadas sobre o solo durante enchentes, drenagens, etc.	As; Cd; Hg; Pb;
• Transporte de partes de minérios: Transporte por depósito sobre o solo.	As; Cd; Hg; Pb;
• Fundição: Contaminação por causa do transporte da poeira pelo vento, aerossóis das rochas, etc.	As; Cd; Hg; Pb; Se; Sb;
• Indústria de ferro e aço.	Cu; Ni; Pb;
• Acabamento do metal	Zn; Cu; Ni; Cr; Cd;
2 – Indústria	
• Plástico	Co; Cr; Cd; Hg;
• Têxtil	Zn; Al; Z; Ti; Sn;
• Microeletrônicos	Cu; Ni; Cd; Zn; Sb;
• Preservação da madeira	Cu; Cr; As;
• Refinarias	Pb; Ni; Cr;
3 - Deposição atmosférica	
• Fontes urbanas/industriais, incluindo incineração das plantas, disposição de resíduos.	Pb; Sn; Hg; V; Cd; Cu;
• Indústrias pirometalúrgicas	As; Cd; Cr; Cu; Mn; Ni; Pb; Sb; Ti; Zn;
• Exaustão de automóveis	Mo; Pb; Br; Cl; V;
• Combustão de combustível fóssil	As; Pb; Sb; Se; U; V; Zn; Cd;
4 – Agricultura	
• Fertilizantes	As; Cd; Mn; U; V; Zn;
• Estercos	As e Cu em estercos de suínos e aves Mn e Zn em estercos de curral
• Calcário	As; Pb
• Agrotóxicos	Cu, Mn e Zn em fungicidas As e Pb usados em pomares
• Águas de irrigação	Cd; Pb; Se;
• Corrosão de metais	Cu; Pb; Zn;
5 - Deposições de resíduos sobre o solo	
• Lodo de esgoto	Cd; Cr; Cu; Hg; Mn; Mo; Ni; Pb; V; Zn;
• Lixiviação	As; Cd; Fé; Pb;
• Depósito de aterro	As; Cr; Cu; Pb; Zn;
• Fogueiras, cinzas de carvão, etc.	Cu; Pb;

A toxicidade está relacionada principalmente aos sistemas nervoso e hematopoiético. Entretanto, podem ocorrer efeitos renais, cardiovasculares e na reprodução, não existindo, porém, evidências adequadas de carcinogenicidade em humanos. Alguns estudos têm correlacionado efeitos adversos à saúde com níveis cada vez mais baixos de chumbo no sangue, até mesmo em concentrações menores que  $10\mu\text{g.dL}^{-1}$ , principalmente em crianças (ATSDR, 1992).

A tabela 4 acima citada por ROSS (1995), mostra que as quantidades de metais pesados emitidas na atmosfera por atividade humana, em relação aos processos naturais, foram 15 vezes mais de cádmio, 100 vezes mais de chumbo, 13 vezes mais de cobre e 21 vezes mais de zinco. O autor identificou cinco grupos principais de fontes antropogênicas contaminadoras de metais pesados no sistema solo-planta.

## 2.6 - Interação entre metais e microrganismos

A biomassa microbiana pode seqüestrar metais em diferentes partes da célula por complexação, quelação, troca de íons, coordenação, adsorção e microprecipitação inorgânica. Pode, ainda, apresentar alta afinidade por metais, e adsorvê-los quando presentes desde  $10\text{mg/Kg}$ . Além disso, a biomassa pode ser regenerada mediante tratamentos específicos.

A parede celular representa uma barreira protetora, particularmente pronunciada para íons metálicos, com a qual interagem, devido às suas características aniônicas, especialmente das proteínas (DOMINGOS, 1996).

Segundo GADD e GRIFFITHS (1975), os fungos podem remover metais das soluções por processos físico-químicos e biológicos ou transformá-los em formas menos tóxicas. Os microrganismos, em geral, produzem e excretam compostos orgânicos ou inorgânicos que podem associar-se aos metais do meio externo, imobilizando no processo de complexação e precipitação extracelular.

Segundo TOBIN et al. (1994), bioacumulação pode ser considerada como a recuperação de espécies de metais por processos do metabolismo e que podem envolver transporte dentro da célula e separação de componentes intracelulares. Para o autor, a biossorção consiste em ligação de metais (ou outros solutos, colóides e suspensões) com a biomassa por processos que não envolvem energia metabólica ou transporte.

Segundo GOMES et al. (1998), o processo de bioacumulação divide-se em duas etapas: adsorção do metal em torno do envelope celular (biossorção), processo este independente do metabolismo e translocação ativa de metais através do envoltório celular, dependente de energia metabólica.

Os processos envolvidos na biossorção incluem adsorção, troca iônica e ligações covalentes. Os principais grupos que participam desse processo são os eletronegativos tais como hidroxil, sulfidril; grupos aniônicos como carboxila e fosfatos e grupos contendo nitrogênio como aminas (BABICH e STOTZKY, 1977b).

O processo de remoção de metais pesados pode ser visto tanto em células vivas quanto mortas. No caso de células vivas a remoção de metal é cerca de 6-10 vezes mais rápida no equilíbrio.

Os mecanismos pelos quais o metal é resgatado da solução são divididos em dois grupos, no primeiro estão inseridos os microrganismos vivos onde o resgate do metal depende da atividade metabólica, no segundo estão células vivas, mortas ou em crescimento como resultado de seus grupos funcionais, principalmente os da parede celular.

Os fatores que afetam a remoção de metais por células vivas são pH durante o crescimento, idade, temperatura e alguns ânions.

Alguns casos demonstraram que o resgate de metais era diminuído devido ao baixo pH durante o crescimento, em outros casos onde o pH era constante a diminuição da remoção do metal foi devido à composição da parede celular em crescimento e seus metabólitos se ligarem aos íons metais. Os íons de metais alcalinos não têm utilidade para biossorção, pois não possuem formas complexas capazes de ligarem-se a parede celular (BABICH, 1998).

Muitos microfungos contêm quitina/quitosana como parte integrante da estrutura da parede celular. A ligação de íons metálicos tóxicos e pesados por quitosana ou por quitina é uma consequência direta da base forte dos grupos de amina primária.

De acordo com HUANG et al. (1990), o resgate de íons por células de *Saccharomyces cerevisiae* ocorre em duas fases, constando de uma superfície de rápida ligação de íons e outra, lenta, com resgate intracelular. A fase rápida se completada em 5 segundos e a lenta em 150 minutos. O cádmio e o chumbo resgatados foram observados na linha da superfície, já o cobre foi observado ligeiramente em maior quantidade na presença de glucose, indicando mecanismo de resgate intracelular.

O resgate de metal por células vivas também depende do tempo de contato, pH da solução do metal, condições da cultura, concentração inicial de íons metais e concentração de células na solução aquosa (GADD, 1990). A influencia do pH sobre o resgate de metal pode ser explicada pela competição de prótons nas reações.

A superfície celular pode ser a responsável pela diminuição do resgate de metais em grande quantidade de biomassa devido às interações eletrostáticas dos grupos funcionais da superfície celular.

Grande quantidade de células em suspensão coalescem umas com as outras diminuindo a superfície celular em contato com a solução (ROSS, 1995).

As condições de crescimento também afetam a remoção de metal de soluções aquosas. STRANDBERG et al. (1981) observou que culturas de *S. cerevisiae* crescendo num meio sintético tinham alta porcentagem de resgate de urânio.

O resgate de metais em células mortas pode ser maior, igual ou menor em relação às células vivas. O uso da biomassa morta na indústria oferece vantagem sobre as células vivas, sistemas com células vivas podem ser mais sensíveis à concentração íons metais e condições adversas como pH e temperatura (BABICH, 1977).

Pode-se destacar também que o suplemento constante de nutrientes aumenta o custo operacional e que a recuperação de metais e regeneração do biosorvente é mais complexa em sistemas com células vivas.

O aumento da porcentagem de resgate do metal pode estar ligado a tratamentos que causam a morte celular como calor, autoclavagem, ácidos, álcalis, detergentes e outros.

Os processos de biossorção só são possíveis devido à estrutura da parede celular. Os grupos inseridos à superfície da parede celular ligam-se aos metais promovendo o resgate do metal da solução aquosa. A parede celular é a primeira a entrar em contato com a solução de íons metais que podem ser depositados junto a ela (antes interagindo com o material citoplasmático) ou outras partes celulares.

O resgate intracelular, em casos extremos de células vivas, tem lugar devido ao aumento da permeabilidade, como resultado da ruptura da parede celular e exposição de seus sítios ativos de ligação (GADD, 1993).

KUYUCAK e VOLESKY (1989) utilizaram uma alga verde, *Halimeda opuntia*, na biossorção de  $\text{Cr}^{3+}$ . Os resultados revelaram um grande potencial deste biossorvente (380 mg de  $\text{Cr}^{3+}$  por grama).

Além disso, a bioissorção do cromo pela biomassa foi específica e não foi afetada pela presença de outros cátions ou ânions presentes na solução. A cinética de bioissorção do  $\text{Cr}^{3+}$  foi rápida com um pH ótimo de 4 a 6.

A bioissorção de metais não é baseada num único mecanismo. O fenômeno consiste de vários mecanismos que quantitativa e qualitativamente diferem de acordo com as espécies usadas, a origem da biomassa e seu processamento. A bioissorção de metais segue mecanismos complexos, principalmente troca iônica, quelação, adsorção por forças físicas e o aprisionamento de íons em capilares inter e intrafibrilares e espaços da rede de polissacarídeos estruturais, como resultado do gradiente de concentração e difusão através da parede celular e membranas (VOLESKY e HOLAN, 1995).

As paredes de bactérias, algas e fungos são eficientes bioissorventes metálicos, e em muitos casos a ligação inicial pode ser seguida pela deposição inorgânica de quantidades crescentes de metal. Ligações covalentes e iônicas podem estar envolvidas na bioissorção, com constituintes tais como proteínas e polissacarídeos. Em várias espécies, a bioissorção pode ser a maior proporção da retenção total. Isto é especialmente verdadeiro para metais pesados como chumbo e alumínio, e radioativos como urânio e tório.

As variações na composição das paredes celulares das células microbianas, que podem ser influenciadas pelas condições de cultura, podem resultar em variações consideráveis na capacidade bioissorativa e permitir algum grau de acumulação seletiva (GADD, 1990). A bioissorção de tório por inativação através da biomassa de *R. arrhizus* foi maior quando as células estavam crescendo em meio simples.

Embora muitos materiais biológicos possam se ligar a metais, somente aqueles com capacidade de ligação e seletividade suficientemente altas para metais pesados são viáveis para o uso em processos bioissorativos em grande escala.

A acumulação seletiva de metais pesados por microrganismos é determinada pela competição interiônica e a quantidade total de íons adsorvidos por diferentes células microbianas difere muito de espécie para espécie (NAKAJIMA e SAKAGUCHI, 1986).

Fungos e leveduras podem produzir numerosas proteínas e polipeptídios em resposta à presença de níveis tóxicos de certos metais em seus ambientes. Alguns desses metais são específicos e podem se ligar a uma porção substancial do conteúdo celular.



### 3 - MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 - MATERIAL

##### 3.1.1 - Composto e solo de cobertura

Os compostos inoculados e totalmente colonizados foram adquiridos de produtores comerciais dos municípios de Leme-SP e Ipeúna - SP, totalizando 40 sacos desse material. Os compostos e solos de cobertura que foram utilizados nos experimentos estão disposto na tabela 5. Os sacos contendo o composto inoculado tinha dimensões de 48x26x12 cm formando uma estrutura rígida, pesando em média 12 kg, como mostra a Fig.2. Os solos foram analisados pelo Instituto Campineiro de Análise de Solo e Adubo (ICASA) quanto a metais pesados, composição granulométrica, pH, matéria orgânica e nutrientes inorgânicos.

Tabela 5 – Esquema geral de quais solos e compostos foram utilizados nos experimentos 1; 2; 3 e 4.

	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3	Experimento 4
Local do experimento	Estufa	Laboratório	Ripado	Laboratório
Origem e quantidade de composto	Leme 12kg	Leme 12kg	Ipeúna 12kg	Leme 12kg
Origem e quantidade de solo	Rio Claro 10kg	Rio Claro 10kg	Ipeúna 10kg	Leme 10kg
Adição de sais de metais	Cromo 132 mg Cádmio 66 mg Chumbo 12 mg	Cromo 132 mg Cádmio 66 mg Chumbo 12 mg	Cromo 132 mg Cádmio 66 mg Chumbo 12 mg	Cromo 132mg Cádmio 66 mg Chumbo 12 mg



Fig.2 - Aspecto do composto comercial inoculado e colonizado com *A. blazei* que foi utilizado nos experimentos.

### 3.1.2 - Contaminação por metais pesados

Além da quantidade de metais pesados que o solo de cobertura possuía acrescentaram-se outras porções com a finalidade de torná-lo mais rico nos metais alvos da pesquisa.

Para aumentar a quantidade de cádmio, chumbo e cromo no solo foram usados três tipos de sais, um para cada metal, sendo todos solúveis em água. Misturou-se ao solo 132 mg sulfato de cromo, 66 mg de cloreto de cádmio e 12 mg de nitrato de chumbo em forma sólida. Estes valores foram estimados após análises em várias amostras de basidiocarpos de *A. blazei* adquiridos comercialmente e os maiores valores obtidos foram selecionados. A homogeneização dos sais no solo foi realizada com a solubilização dos sais nas regas. Os solos empregados nos quatro experimentos receberam a mesma quantidade de sais de metais pesados relacionados acima.

### 3.1.3 - Aditivos

Para a correção do pH empregou-se um produto comercial chamado de calcário calcítrico. Este material foi adicionado ao solo no momento da cobertura do composto. Usaram-se 600g de calcário calcítrico em cada saco com dez quilos de solo de cobertura.

Além do calcário, utilizou-se também 100 g de carvão vegetal triturado adquirido no comércio para fins de combustão na área de alimentos, para cada 10 kg de solo. O carvão tem a finalidade adsortiva, além de manter a umidade do solo evitando sua dessecação, facilitando a colonização do micélio na camada de solo de cobertura.

#### 3.1.4 - Local de instalação do cultivo

Foram realizados dois tipos de experimentos diferenciados pelo local de cultivo. Os experimentos 1 e 3 foram instalados em locais desprotegidos onde havia maior variação de temperatura, os experimentos 2 e 4 estavam instalados em local no laboratório do Departamento de Bioquímica e Microbiologia da Unesp de Rio Claro, local protegido das intempéries, sem controle de luminosidade e médias de temperatura de 22 °C.

O experimento 1 localizava-se em uma das estufa de vegetação do Instituto de Biociências da Unesp de Rio Claro, cujo teto encontrava-se parcialmente removido. O experimento 3 foi montado em um ripado com cobertura de telhas de barro cujas laterais e o piso permitiam a circulação do ar, como a fig.3. Esta estrutura localiza-se em um cultivo comercial no distrito de Ipeúna - SP. O experimento 4 foi montado como o experimento 2 no laboratório na Unesp de Rio Claro, figura 5(b).



Fig.3 - Aspecto do local de cultivo desprotegido de *A. blazei* após a cobertura com o solo no experimento 3.

Cada par de sacos representava um tipo de tratamento e como se observa através da figura 3 os sacos foram dispostos no chão e não nas prateleiras a fim de garantir um local com as mesmas características para cada saco.

## 3.2 - MÉTODOS

### 3.2.1 - Isolamento do fungo

O isolamento desta linhagem do fungo foi realizado em garrafa de 2 litros de politereftalato de etileno (PET), cortada a 25 cm da base, onde se colocou o composto usado nos experimentos, até formar uma camada de 12 cm, por cima colocou-se o solo de cobertura, uma camada de 5 cm e prosseguiu-se com as regas diariamente para manter a umidade. A Fig.4(a) mostra a montagem da garrafa e o basidiocarpo formado.

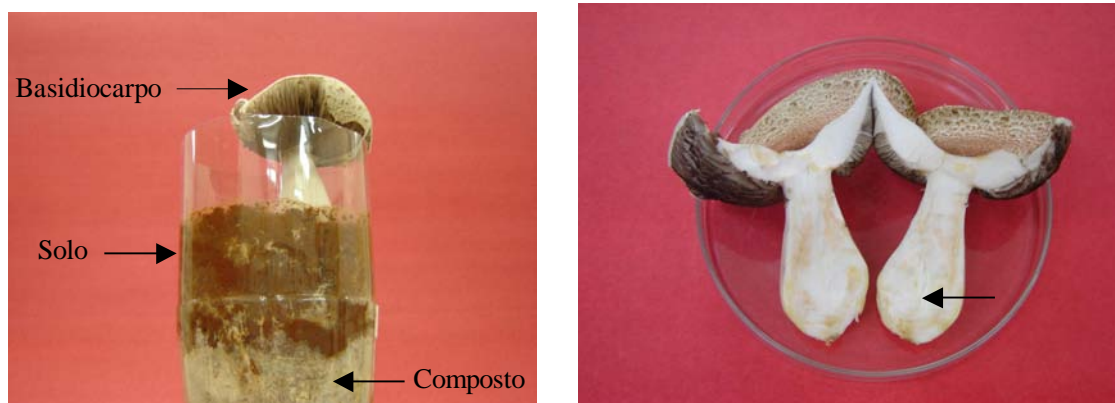


Fig.4 – (a) Frutificação de *A. blazei* em laboratório; (b) Identificação do local na haste de onde se procedeu o isolamento das hifas para preservação da linhagem.

A partir do basidiocarpo formado 15 dias após a cobertura do composto isolou-se a linhagem do fungo. Coletou-se o mesmo antes da esporulação, a seguir foi lavado e assepticamente cortado de modo transversal, como a Fig.4(b). Uma vez aberto, coletou-se parte de suas hifas primárias e depositou-as em uma placa de Petri contendo meio de cultura de aveia, incubou-se a 28 °C durante 3 dias. Após obter uma cultura pura, o material foi mantido no mesmo meio e repicado quinzenalmente. A seta na Fig.4(b) indica o local do qual as hifas foram retiradas, evitando o píleo que poderia apresentar mudanças no micélio, ocasionadas pela formação dos esporos.

### 3.2.2 - Montagem dos experimentos

Cada saco contendo o composto recebeu solo contaminado com metais mais calcário calcítrico e carvão triturado, assim distribuídos em 2 sacos controles; 2 sacos contaminados com chumbo; dois sacos contaminados com cromo; dois sacos contaminados cádmio e dois sacos contaminados com os três metais.



Fig.5 – Indicação de como foram montados os experimentos: (a) Espalhamento do solo sobre o composto colonizado; (b) Disposição dos sacos contendo os metais e o controle.

A quantidade de solo contaminado colocada sobre a superfície do composto, Fig. 5(a), totalizava 5 cm de altura, formando a camada de cobertura do composto como recomendam os produtores da região de Rio Claro - SP.

Após o término da montagem com o solo de cobertura, cada saco foi colocado sobre uma bancada, como mostra a figura 5(b), no Departamento de Bioquímica e Microbiologia da Unesp de Rio Claro.

Após a frutificação nos sacos contaminados os teores de metais pesados nos basidiocarpos foram quantificados. Analisaram-se também os aminoácidos, tanto qualitativa como quantitativamente, assim como porcentagem de proteínas e modificações estruturais (FTIR). Nesta condição foram anotadas as temperaturas e umidade média dos diferentes locais de cultivo.

### 3.2.3 – Manutenção da umidade mediante regas

A umidificação do solo, fig.6, foi efetuada de acordo com a necessidade verificada empiricamente pelo aspecto seco do solo e alteração da cor aparente, usando o dorso da mão.



Fig. 6 – Umidificação do solo com um aspersor de jato fino.

#### 3.2.4 - Preparo e análise dos basidiocarpos

Após a frutificação, os basidiocarpos foram colhidos, lavados em água corrente, fragmentados, secos a temperatura de 45 a 55 °C durante 8 a 14 horas em estufa (PASCHOLATTI, 1998) e triturados em almofariz.

Os basidiocarpos desidratados foram analisados em relação à proteínas, aminoácidos, metais pesados contidos nas amostras e FTIR. O método utilizado para quantificar proteínas bruta total foi o método de KJELDAHL. As análises para quantificação de aminoácidos foram realizadas pelo ITAL – Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas - SP. As análises para metais pesados foram realizadas pelo Instituto de Geologia e Ciências Exatas - IGECE da Unesp de Rio Claro mediante espectrofotômetro de absorção atômica.

Para determinar em quais moléculas estavam ocorrendo a inserção de metais pesados na estrutura biológica de *A. blazei* foi utilizado um Espectrofotômetro FTIR – 8300 da SHIMINADZU.

## 4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 – Análise do solo de cobertura dos experimentos 1 e 2

Mediante a análise do solo de cobertura dos experimentos 1 e 2 (solo 1 e 2), cujos resultados estão indicados na tabela 6, observou-se que o pH do solo era baixo com menor quantidade de cádmio em relação a cromo e chumbo. Este solo era proveniente do município de Rio Claro-SP e possuía maior porcentagem de argila em relação a areia fina, grossa, limo e cascalho, propiciando maior retenção de água. Nota-se também a presença de outros metais como sódio e cobre, destacando-se o ferro em maior quantidade.

Tabela 6 - Análise do solo segundo ICASA usado como cobertura nos cultivos de *A. blazei* nos experimento 1 e 2

Parâmetros	Solo 1 e 2	Parâmetros	Solo 1 e 2
pH	4,50	K	0,30 mmolc/dm <sup>3</sup>
Matéria Orgânica	6,0 g/dm <sup>3</sup>	Ca	72,0 mmolc/dm <sup>3</sup>
Ferro	6,0 mg/dm <sup>3</sup>	Mg	17,0 mmolc/dm <sup>3</sup>
Manganês	1,0 mg/dm <sup>3</sup>	Zinco	0,50 mg/dm <sup>3</sup>
Cobre	0,2 mg/dm <sup>3</sup>	Boro	0,17 mg/dm <sup>3</sup>
Enxofre	6,0 mg/dm <sup>3</sup>	Areia grossa	11,5%
Sódio	4,0 mg/dm <sup>3</sup>	Limo	14,1%
Cádmio	0,24 ppm	Cascalho	-
Cromo	9,17 ppm	Argila	49,7%
Chumbo	15,14 ppm	Areia fina	24,7%



#### 4.1.2 - Análise do composto

Os metais pesados estão presentes no solo e de acordo com o organismo que os absorvem são transferidos de nível a nível na cadeia trófica não sendo eliminados do sistema. O composto utilizado nos experimentos era de origem vegetal e, portanto, passível de acumular metais em suas células. Para que a quantidade de metais disponíveis para bioacumulação do fungo fosse conhecida foi necessário realizar análises no composto.

A tabela 7 registra as quantidades de metais pesados no composto usado no experimento 1 e 2, (composto 1), e a quantidade de metais pesados no solo de cobertura além do que foi adicionado. Este composto era proveniente do município de Leme-SP. Os cálculos para determinação do total de metais estão disponíveis no anexo I.

Tabela 7 - Total de metais pesados (ppm) disponíveis para *A. blazei* no experimento 1 e 2

Metais	Composto 2	Solo 2	Metais adicionados	Total * (mg)
Cd	1,9	0,24	2,96	50,4
Cr	9,15	15,14	0,62	522,4
Pb	7,85	9,17	3,61	371,8

\* Total de metais em 22 kg (12 kg de composto e 10kg de solo).

#### 4.1.3 - Frutificação

O experimento 1 foi montado na casa de vegetação em de junho de 2005. Estes sacos não apresentaram desenvolvimento do micélio até a superfície do solo, no tempo previsto, cerca de 15 dias, O aparecimento das hifas na superfície é o prenúncio de futura formação de basidiocarpos. O experimento 1 não apresentou frutificação após três meses de incubação, devido a elevada amplitude térmica, vide apêndice.

O experimento 2 foi montado em julho de 2005 e após 22 dias da cobertura do composto com o solo o micélio desenvolveu-se e atingiu a superfície. Entre as ranhuras do solo podem-se observar manchas brancas cotonosas que constituem parte do micélio que atingiu a superfície.



A figura 7(a) mostra em detalhes o micélio entre os grânulos do solo. Quatro dias depois do aparecimento do micélio na superfície ocorreu a primeira frutificação nos sacos que estavam no laboratório. O primeiro saco a frutificar foi aquele que estava contaminado com sal de chumbo.



Fig.7 – (a) Aspecto do micélio de *Agaricus blazei* ao redor dos grânulos do solo antes da frutificação; (b) Primeiros basidiocarpos do cultivo 2.

A Fig. 7(b) mostra os primeiros cogumelos que se desenvolveram. Os outros sacos frutificaram subsequenteemente exceto os dois que estavam contaminados com cádmio. O Total da produção de basidiocarpos no experimento 2; 3 e 4 estão disponíveis na tabela 8.

Tabela 8 – Produção de basidiocarpos (g) de *A. blazei* nos experimentos 2; 3 e 4

Metais	Experimentos			
	1	2	3	4
Controle	-	596,27 g	152,30 g	15,00 g
Chumbo	-	185,37 g	604,77 g	151,49 g
Cromo	-	149,93 g	249,56 g	413,15 g
Cádmio	-	-	-	448,37 g
Três metais	-	46,91 g	674,85 g	327,80 g

O último cogumelo colhido nessa etapa foi em agosto de 2005 e após esta data não existiram outras frutificações, fato este que permaneceu até o encerramento do experimento 2 em novembro de 2005.

#### 4.1.4 - Quantificação de metais pesados

No experimento 1 embora acompanhado durante todo o período, mantendo-se os sacos irrigados de tal forma que a umidade não fosse o fator limitante, não ocorreu formação de basidiocarpos, razão pela qual a análise de metais ficou comprometida. Os basidiocarpos colhidos no experimento 2 foram analisados quanto a metais pesados e o resultado está disposto na tabela 9.

Tabela 9 - Quantificação de metais pesados (ppm) e porcentagem (%) de acúmulo de metais nos cogumelos dos diferentes sacos do experimento 2

Metais	Contaminação dos sacos				
	Controle Cog./ % de absorção	Chumbo Cog. / % de absorção	Cromo Cog./ % de absorção	3 metais Cog./ % de absorção	Cádmio Cog./ % de absorção
Chumbo	5,15/0,82	6,00/0,30	0,15/0,006	0,9/0,011	-
Cromo	3,25/0,37	1,95/0,07	2,20/0,063	2,3/0,021	-
Cádmio	1,30/1,54	0,75/0,27	0,60/0,18	7,40/0,69	-

Os sacos nomeados controle representam aqueles nos quais não houve adição de metais pesados, ou seja, estavam disponíveis para a adsorção/absorção apenas os metais do solo e do composto.

O saco 1 além dos metais do solo e do composto possuía um adicional de chumbo. Os sacos 2, 3 e 4 além dos metais do solo e do composto possuíam respectivamente aditivos com sais de cromo, três metais juntos (Cd, Cr, Pb) e sais de cádmio. No experimento 2 não houve formação de corpos de frutificação nos sacos contaminados com cádmio (saco 4).

A tabela 9 indica a total quantidade de metais acumulados em cada tratamento, mostrando porcentagens de acúmulo de cada metal nos diferentes sacos. Pode-se verificar que em todos os tratamentos o metal que teve a maior taxa de absorção foi o cádmio, mesmo onde outros metais estavam em maior quantidade. Deve-se ressaltar que o acúmulo de cádmio foi observado em sacos com outros tratamentos, principalmente nos sacos controle.

Os corpos de frutificação de fungos comestíveis são apreciados não somente pela textura e sabor, mas também por suas propriedades químicas e nutricionais (MANZI et al., 1999). Os fungos são relatados por serem alimentos terapêuticos, usados para prevenir doenças como hipertensão, hiperlipidimia e câncer.

As necessidades de metais para o crescimento dos fungos incluem cobre, ferro, manganês, molibdênio, zinco e níquel. Os metais não essenciais comumente incluem cromo, cádmio, chumbo, mercúrio e prata (GADD, 1993). Os metais pesados presentes no ambiente podem interagir diretamente com enzimas extracelular dos fungos. Para causar a resposta fisiológica os metais pesados precisam ser absorvidos pelos fungos.

Os efeitos tóxicos de metais não essenciais afetam a atividade de enzimas extracelulares, envolvidas na lignólise. Aрил álcool oxidase de *P. eryngii* é inibida por íons prata e chumbo (GUILLEN et al., 1990). Prata, cobre e mercúrio inibem a atividade de piranose oxidase em um basidiomiceto não identificado, diferentemente do ferro que aumenta sua atividade (IZUMI et al., 1990).

Os fungos são capazes de acumular altas concentrações de metais pesados (DHAWALE et al., 1996; GABRIEL et al., 1996; MELGAR et al., 1998; CIHANGIR e SAGLAM, 1999), e esse fato pode causar sérios riscos para saúde humana, pois os fungos comestíveis podem ser cultivados em resíduos agroindustriais que possuem substâncias tóxicas como metais pesados (BRESSA et al., 1988; FAVERO et al., 1990).

A capacidade de *Pleurotus ostreatus* de incorporar metais pesados e selênio foi demonstrado por MUÑOS (2007). Cádmio foi usado como marcador de poluição relacionada a metais pesados e a exposição à prata foi examinada por comparação. Ambos íons metálicos exibiram alta afinidade por grupos tiol e demonstraram estarem relacionados com a indução do estresse oxidativo. Os resultados sugerem que o selênio (IV) exibe o papel protetor contra toxicidade do cádmio não somente em relação à da redução da incorporação desse metal, mas também na interação intracelular.

Esporocarpos *Pleurotus sajor-caju* (fungo comestível) acumularam grande quantidade de cádmio e pequena de chumbo (PURKAYASTHA, 1994). Experimentos usando isótopos radioativos  $^{109}\text{Cd}$  e  $^{203}\text{Hg}$  revelaram que os corpos de frutificação comunicam-se com o substrato (PURKAYASTHA et al., 1994).

Essa comunicação entre o substrato e os corpos de frutificação ocorre em ambas direções. Metais aplicados dentro dos corpos de frutificação de *Agrocybe aegerita* foram parcialmente translocados dentro do substrato (palha de trigo) no decorrer das consecutivas (BRUNNERT e ZADRAZIL, 1979). O aumento da translocação de cádmio e mercúrio pelo micélio de *A. aegerita* diminui com o aumento da concentração de metais, provavelmente devido à toxicidade. (BRUNNERT e ZADRAZIL, 1981).

Cádmio e cobre exercem seus efeitos tóxicos diretamente na membrana plasmática, onde interferem no transporte de solutos e outros fenômenos. Ambos causam não só permeabilização da membrana (associado com o fluxo de K), mas também mudanças em sua composição (HOWLLET e AVERY, 1997).

A presença de metais pesados pode também interferir no ciclo do carbono e no sistema de energético de celulases e hemicelulases. A celulase de *P. chrysosporium* em meio líquido foi inibida na presença de 50-150 ppm de Cd, Cu, Pb, Mn, Ni e Co. Em concentrações de 150-300 ppm Mn ou 300 ppm de Cd ou Co nenhuma atividade de celulase foi detectado.(FALIH, 1998).

Como aproximadamente metade da recomendação máxima de cádmio admitida é suprida pela alimentação normal o consumo semanal de 50 g de material seco de *A. macrosporus*, *A. arveisis*, *Agaricus essettei* ou *Agaricus sylvicola*, teoricamente, superaria esta recomendação, porém os fungos não são normalmente consumidos diariamente.

Muitos tipos de fungos comestíveis são conhecidos por acumular altos níveis de metais pesados e principalmente Cd, Hg e Pb (KALAC e SVABODA, 2000). A interação desses fungos com metais pesados causam severas mudanças em seus processos fisiológicos e dentro de certas circunstâncias pode até matar o micélio. Por isso, estes possuem mecanismos de defesa para amenizar a toxicidade dos metais.

Os mecanismos de defesa, em geral, são baseados na imobilização de metais pesados utilizando a quelação de compostos extracelulares e intracelulares. Em alguns grupos taxonômicos de fungos os metais pesados são quelados intracelularmente por compostos peptídicos de peso molecular baixo (TOMSETT, 1993).

Por outro lado, cádmio aumentou a atividade de endocelulase durante o cultivo de *P. ostreatus* em palha (BALLDRIAN et al., 1999). Íons de Mercúrio, ferro e cobre inibiram fortemente a atividade de  $\alpha$ -glucosidase de *T. gibbosa* (BHATTACHARJEE et al., 1992). Cobre, mercúrio, estrôncio e chumbo, mas não ferro, zinco, cobalto ou manganês também inibiram  $\alpha$ -glucosidase isoladas de *Gloeophyllum sepiarium* e *G. trabeum* (MANSFIELD, 1998).

#### 4.1.5 - Quantificação de proteínas

Para verificar se ocorre interferência do acúmulo de metais nos basidiocarpos quanto ao teor de proteínas totais efetuou-se a quantificação para cada tratamento. Observou-se que ocorre pequena diferença na porcentagem de proteína bruta entre os tratamentos nos basidiocarpos recolhidos para o experimento 2; 3 e 4, dispostos na tabela 10. Nota-se que entre os basidiocarpos analisados aqueles que possuíam maior porcentagem de proteínas eram os do tratamento controle cujo solo não recebeu adição de metais pesados.

Tabela 10 - Porcentagem total de proteínas dos cogumelos no experimento 2

Tratamentos	% de proteínas nos cogumelos do exp. 1	% de proteínas nos cogumelos do exp. 2	% de proteínas nos cogumelos do exp. 3	% de proteínas nos cogumelos do exp. 4
Cd	-	-	-	33,50
Pb	-	32,95	25,5	35,20
Cr	-	35,50	30,5	28,50
Cd, Pb, Cr	-	37,30	37,8	27,50
Controle	-	38,00	41,5	38,00

#### 4.1.5.1 - Quantificação de aminoácidos

A figura 8 indica os tipos de aminoácidos dos basidiocarpos recolhidos no experimento 2. Pode-se verificar que todos aminoácidos essenciais estão presentes, assim como os “não essenciais”. Em maiores quantidades encontrou-se o ácido glutâmico e a metionina.

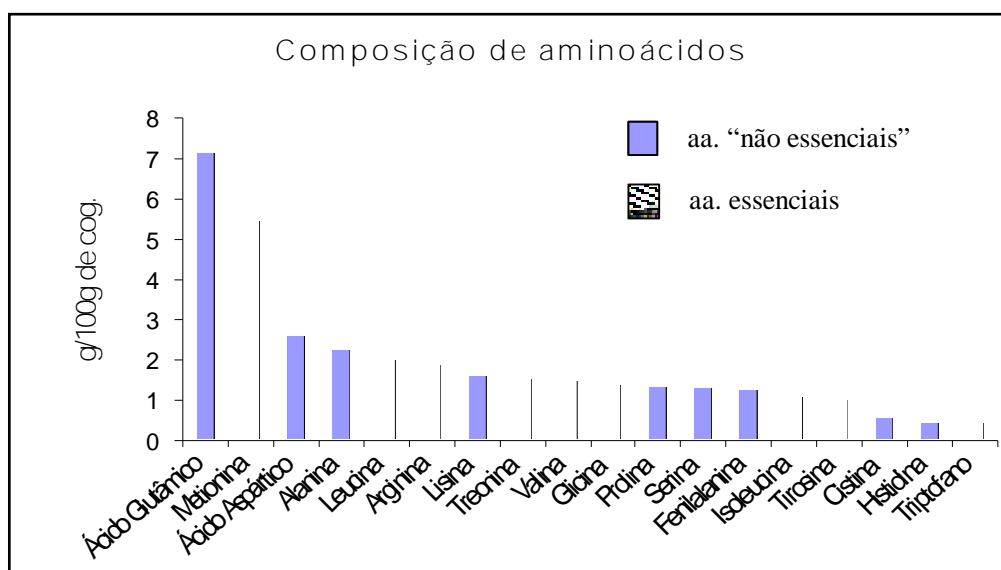


Fig.8 – Composição de aminoácidos dos basidiocarpos controle do experimento 2.

#### 4.2 - Experimento 3

##### 4.2.1 - Análise do solo de cobertura

Para o experimento 3 o solo de cobertura utilizado foi do município de Ipeúna-SP. O solo foi analisado como o solo dos experimentos 1 e 2 e as características obtidas dessa análise estão registradas na tabela 11.

Tabela 11 – Análise do solo de cobertura usado no experimento 3

Parâmetros	Solo 3	Parâmetros	Solo 3
pH	6,2	K	44,50 mmolc/dm <sup>3</sup>
Matéria Orgânica	51,0 g/dm <sup>3</sup>	Ca	39,0 mmolc/dm <sup>3</sup>
Ferro	15,0 mg/dm <sup>3</sup>	Mg	55,0 mmolc/dm <sup>3</sup>
Manganês	13,0 mg/dm <sup>3</sup>	Al	Zero mmolc/dm <sup>3</sup>
Cobre	1,20 mg/dm <sup>3</sup>	H+Al	25,0 mmolc/dm <sup>3</sup>
Enxofre	104,0 mg/dm <sup>3</sup>	CTC	170,8 mmolc/dm <sup>3</sup>
Sódio	170,0 mg/dm <sup>3</sup>	Zinco	6,00 mg/dm <sup>3</sup>
Cádmio	0,80 ppm	Boro	2,75 mg/dm <sup>3</sup>
Cromo	20,72 ppm	Ca/Mg	0,70
Chumbo	< 0,01	Mg/K	1,23

#### 4.2.2 - Análise do composto

O composto do experimento 3 foi analisado quanto aos metais Cd, Cr e Pb e os referidos valores estão dispostos na tabela 12, onde também estão os valores correspondentes à quantidade de metais no solo de cobertura e aqueles adicionados, totalizando a quantidade que estava disponível para absorção/adsorção.

Tabela 12 - Quantificação dos metais (ppm) disponíveis para *A. blazei* no experimento 3

Metais	Composto 3	Solo 3	Metais adicionados	Total * (mg)
Cd	0,36	0,80	2,96	24,6
Cr	4,38	20,72	0,62	519,5
Pb	< 0,01	< 0,01	3,61	0,447

\* Total de metais em 22 kg (12 kg de composto e 10kg de solo).

#### 4.2.3 - Frutificação

O experimento 3 foi montado em março de 2006. Todo processo desde o desenvolvimento do micélio até a superfície ocorreu em 8 dias. A frutificação ocorreu 13 dias após a cobertura do composto e, como esperado, seguiu o modelo do experimento 2. O total de basidiocarpos colhidos para o experimento 3 está disposta na tabela 8.

A frutificação dos sacos do experimento 3 ocorreu até 40 dias após a primeira frutificação, não ocorrendo depois deste prazo. Este experimento foi encerrado em junho de 2006, três meses após a cobertura do composto.

#### 4.2.4 - Quantificação de metais pesados

Os basidiocarpos recolhidos no experimento 3 foram analisados quanto a metais pesados e os resultados estão dispostos na tabela 13.

Observa-se que no saco denominado 3, contaminado com os três metais houve grande adsorção/absorção de cádmio e em todos os sacos o acúmulo de cromo foi numericamente igual.

Tabela 13 - Quantificação de metais pesados (ppm) e porcentagem (%) de acúmulo de metais nos cogumelos dos diferentes sacos do experimento 3

Metais	Contaminação dos sacos				
	Controle Cog./ % de absorção	Chumbo Cog. / % de absorção	Cromo Cog./ % de absorção	3 metais Cog./ % de absorção	Cádmio Cog./ % de absorção
Chumbo	1,30/44,0	1,90/257,0	1,50/85,0	1,20/17,40	-
Cromo	8,40/0,25	8,30/0,97	8,30/0,40	8,30/0,10	-
Cádmio	5,40/3,34	2,40/5,90	2,90/2,90	14,50/3,81	-

Quando se considera a quantidade de metais no solo e composto observando o peso de cada um, 12 kg e 10 kg respectivamente, podem-se estabelecer as porcentagens de acúmulo de metais pelos basidiocarpos nos diferentes tratamentos, tabela 13.

A tabela acima registra que o acúmulo de chumbo em todos os tratamentos foi elevada devido às baixas concentrações do metal no solo e no composto, abaixo de nível de detecção do equipamento utilizado.

#### 4.2.5 - Quantificação de proteínas

Os resultados da quantificação de proteínas bruta total do experimento 3 estão dispostos na tabela 10. A tabela registra que o controle possui maior quantidade de proteínas em relação aos outros tratamentos. Os basidiocarpos dos sacos contaminados com Pb tiveram menor porcentagem de proteínas em relação aos outros tratamentos.

### 4.3 - Experimento 4

#### 4.3.1 - Análise do solo de cobertura

Na tabela 14 estão os dados da análise do solo de cobertura proveniente de Leme-SP usado para o experimento 4.



Trata-se de um solo mais arenoso com pH mais alto em relação aos outros solos utilizados, apresenta também grande quantidade de cromo em relação a chumbo e cádmio. Os elementos de enxofre e sódio estão em teores maiores em detrimento de outros.

Tabela 14 - Análise do solo de cobertura usado no experimento 4

Parâmetros	Solo 4	Parâmetros	Solo 4
pH	7,4	K	0,8 mmolc/dm <sup>3</sup>
Matéria Orgânica	3,00 g/dm <sup>3</sup>	Ca	26 mmolc/dm <sup>3</sup>
Ferro	4,00 mg/dm <sup>3</sup>	Mg	17 mmolc/dm <sup>3</sup>
Manganês	0,80 mg/dm <sup>3</sup>	Zinco	0,9 mg/dm <sup>3</sup>
Cobre	0,30 mg/dm <sup>3</sup>	Boro	0,15 mg/dm <sup>3</sup>
Enxofre	48,0 mg/dm <sup>3</sup>	Areia grossa	31,4%
Sódio	54,0 mg/dm <sup>3</sup>	Limo	9,2%
Cádmio	0,72 ppm	Cascalho	-
Cromo	22,88 ppm	Argila	21%
Chumbo	9,97 ppm	Areia fina	38,4%

#### 4.3.2 - Análise do composto

O composto usado para o experimento 4 foi adquirido de um produtor do município de Leme - SP. A análise para metais pesados está disposta na tabela 15, demonstra também os dados da quantificação de metais pesados para o solo de cobertura, composto e a alíquota adicionada ao solo. Observa-se que diferentemente do composto 3 há uma quantidade considerável de chumbo no composto 4.

Tabela 15 - Quantificação dos metais (ppm) disponíveis para o fungo no experimento 4

Metais	Composto 4	Solo 4	Metais adicionados	Total* (mg)
Cd	1,90	0,72	2,96	60,0
Cr	9,15	22,88	0,62	677,2
Pb	7,85	9,97	3,61	387,8

\* Total de metais em 22 kg (12 kg de composto e 10kg de solo).

#### 4.3.3 - Frutificação

O experimento 4 foi efetuado em março de 2006. A frutificação ocorreu após 30 dias o aparecimento do micélio na superfície do solo de cobertura.

O total de cogumelos do experimento 4 está disposto na tabela 8. O último cogumelo recolhido deste experimento foi em abril de 2006 e o encerramento ocorreu em junho de 2006.

#### 4.3.4 - Quantificação de metais pesados

No experimento 4 ocorreu a formação de basidiocarpos em todos os tratamentos, incluindo os sacos contaminados com cádmio que nos outros experimentos não frutificaram. A quantificação dos metais pesados acumulados nos basidiocarpos para o experimento 4 está disposta na tabela 16.

Tabela 16 - Quantificação de metais pesados (ppm) e porcentagem (%) de acúmulo de metais nos cogumelos dos diferentes sacos do experimento 3

Metais	Contaminação dos sacos				
	Controle Cog./ % de acúmulo	Chumbo Cog. / % de acúmulo	Cromo Cog./ % de acúmulo	3 metais Cog./ % de acúmulo	Cádmio Cog./ % de acúmulo
Chumbo	2,40/0,05	1,10/0,18	0,65/0,50	0,65/0,05	5,70/0,70
Cromo	12,30/0,02	8,20/0,043	8,20/0,07	8,70/0,42	10,40/0,67
Cádmio	6,20/0,15	4,50/1,14	5,80/4,00	20,10/11,0	8,60/6,40

A porcentagem de acúmulo de metais pesados para o experimento 4 está disposta na tabela 16. Observa-se que a porcentagem de acúmulo atingiu 11% de cádmio no saco contaminados com os três metais.

Segundo FAVERO et al. (1991), a podridão branca pode concentrar metais absorvidos do substrato em seu micélio. *P. ostreatus* foi capaz de acumular 20 mg /g peso seco de cádmio do meio líquido contendo 150 ppm de Cd com pelo menos 20% de acúmulo depositado intracelularmente.

Durante sete dias de crescimento em meio de batata contendo 5mM de cobre e zinco, o fungo acumulou 10g/g peso seco de cobre (2.4 g/ g proteína no citosol) e 5 g/g peso seco de zinco. Em 3mM de cádmio no meio o fungo acumulou 20 g/ g peso seco de cádmio (2.8 g/ g proteína no citosol).(SANGLIMSUWAN et al., 1993).

Gabriel et al. (1994) verificaram o cultivo (oito dias) para outras espécies da podridão branca em soluções contendo Al, Cd, Pb e Ca em 1mM cada e ficou demonstrado acúmulo de chumbo em *S. hirsutum* (90.6 µg/mg) e Cd, Al e Ca em *G. applanatum* (272, 600 e 602 µg/mg, respectivamente). Em soluções equimolar 1mM, o chumbo foi preferencialmente acumulado por todos os fungos exceto *G. applanatum* que acumulou alumínio em maior quantidade.

O resgate de metais depende parcialmente do potencial da membrana e ligar-se ao transporte de cálcio. Em nível subcelular 50% do metal é amarrado na parede celular, 30% ficam no citoplasma, 20% são transportados dentro dos vacúolos. O cotransporte de metais bivalentes não-essenciais com o cálcio pode ser relevante também por que os corpos de frutificação da maioria dos fungos comestíveis contém altas concentrações de cálcio (PALMIERI, 2000).

Durante o crescimento de *Daedalea quercina* em meio contendo metais equimolares, a concentração de acúmulo de íons metais decresceu em ordem zinco>cobre>chumbo>alumínio.(BUSWELL, 1995).

Em *G. lucidum* a toxicidade de metais pesados decresce em ordem Hg>Cd>Cu>U>Pb>Mn=Zn (MANDAL, et al. 1998). O decréscimo na taxa do crescimento é às vezes acompanhado com o aumento da fase lag. A extensão da fase lag foi também registrada em média contendo mercúrio no caso de *P. cinnabarinus*. (THAM, et al.1999).

Em *P. ostreatus* não há efeito da adição de metais e na maior decomposição do substrato foi achado 0,5-1,0 mM Cd (GABRIEL, et al., 1996). A presença de metais também interfere com a colonização do solo (BALDRIAN, 2000).

Metais pesados em geral são fortes inibidores de reações enzimáticas (VALLE, 1972). Cobre e cádmio tendem a ligar resíduos de aminoácidos aromáticos em moléculas de enzimas que podem também causar dano a proteínas por indução do estresse oxidativo associado à produção de oxigênio reativo como radicais hidroxil e superóxido (STOHS e BAGHI, 1995).

#### 4.3.5 Quantificação de proteínas

A porcentagem de proteínas para os basidiocarpos do experimento 4 foi determinada e esta disposta na tabela 10. Nota-se que assim como nos outros experimentos o percentual de proteínas é maior no controle, ocorrendo em menor quantidade no tratamento onde se adicionou os três metais.

PRADO-FILHO et al. (1998) demonstraram o acúmulo de Cd por *S. cerevisiae* fermentando o mosto de melaço. Não ocorrendo diferenças estatisticamente significantes no teor de proteína bruta da levedura.

#### 4.4 - Quantificação de metais pesados para basidiocarpos comerciais

Para estabelecer uma possível correlação entre o acúmulo de metais de basidiocarpos contaminados e aqueles comercializados realizaram-se análises de quantificação em alguns basidiocarpos comercializados. Os cogumelos analisados foram coletados de três cultivos distintos (A, B e C). Foram analisados o composto e o solo de cobertura. A tabela 17 demonstra o total de metais disponíveis para acúmulo, os teores encontrados nos basidiocarpos e as taxas de acúmulo de metais.

Tabela 17 – Total de metais disponíveis para acúmulo, teores encontrados nos basidiocarpos e taxa de acúmulo (%) de metais pesados nos basidiocarpos analisados de 3 cultivares A; B e C.

	Metais	total	Basidiocarpos	% de acúmulo
Cultivar A	Cd	30,00	0,75	0,012
	Cr	323,00	2,20	0,003
	Pb	209,50	1,05	0,002
Cultivar B	Cd	25,20	0,55	0,01
	Cr	185,90	2,50	0,006
	Pb	261,20	0,35	0,0006
Cultivar C	Cd	44,90	1,05	0,012
	Cr	3,30 x 10 <sup>3</sup>	2,05	0,0003
	Pb	472,0	0,30	0,0003

Verificou-se que a porcentagem de acúmulo de metais em todos os cultivos comerciais analisados é baixa, porém o metal que teve maior taxa de absorção/adsorção foi o cádmio em relação aos demais metais. Comparando-se os resultados dos basidiocarpos contaminados dos experimentos realizados com os comerciais verificou-se que os primeiros seguem a tendência dos últimos em acumular maior quantidade de cádmio em detrimento dos outros metais pesados.

ROSA et al. (1998) demonstraram que substâncias alcalinas (tratamento caustico) podem aumentar a capacidade de *Aspergillus niger* em acumular Cd na presença de citrato. Essas substâncias são capazes de remover lipídios e proteínas que mascaram sítios reativos, aumentando a capacidade adsortiva dos materiais biológicos.

O comprometimento da parede celular pelo cádmio pode ser uma das razões da adsorção não linear do metal por leveduras. Este comprometimento não se dá quando se trata de compostos que não interferem com a parede celular, como no caso de azo-compostos.

O acúmulo de metais foi observado por ocorrer em associação com produtos extracelulares (polímeros) na parede celular, dentro ou fora da célula.

Estudos realizados por MATTHEWS et al. 1979, mostraram grandes evidências de que grupos carboxílicos nos peptidoglicanos presentes na parede celular de *B. subtilis* são o principal sítio da complexação de íons divalente. A produção de polímeros extracelulares em cápsulas pode proteger alguns microrganismos contra determinadas doses de determinado metal.

A composição do meio afeta a estrutura dos polímeros da parede celular e pode também influenciar a capacidade de ligação do microrganismo com o metal. Fungos e leveduras podem produzir um número de proteínas e polipeptídios em resposta a presença de níveis tóxicos de certos metais em seus ambientes.

A mudança da capacidade de sorção com a variação do pH pode ser explicada sobre a base de competição por prótons nas reações de adsorção. As paredes das células dos fungos contêm quitina e quitosana que demonstram seqüestrar íons metálicos.

Esses componentes da parede celular podem ligar-se durante o crescimento do micélio e podem demonstrar a variação da capacidade de reciclagem com idade da célula.

#### 4.5– Espectroscopia de infravermelho

Para análise por espectroscopia de infravermelho (FTIR) primeiramente é necessário à confecção de pastilhas do material a ser analisado. Os basidiocarpos de todos os tratamentos foram desidratados, moídos, macerados com KBr e prensados para leitura no aparelho.

Com os resultados do FTIR nota-se que há mudanças na estrutura das moléculas dos basidiocarpos depois do tratamento aplicado, porém não é possível afirmar em quais moléculas ou estruturas estão ocorrendo estas modificações.

As figuras 9 e 10 demonstram os espectros de infravermelho dos basidiocarpos do experimento 2, controle e tratados com chumbo.

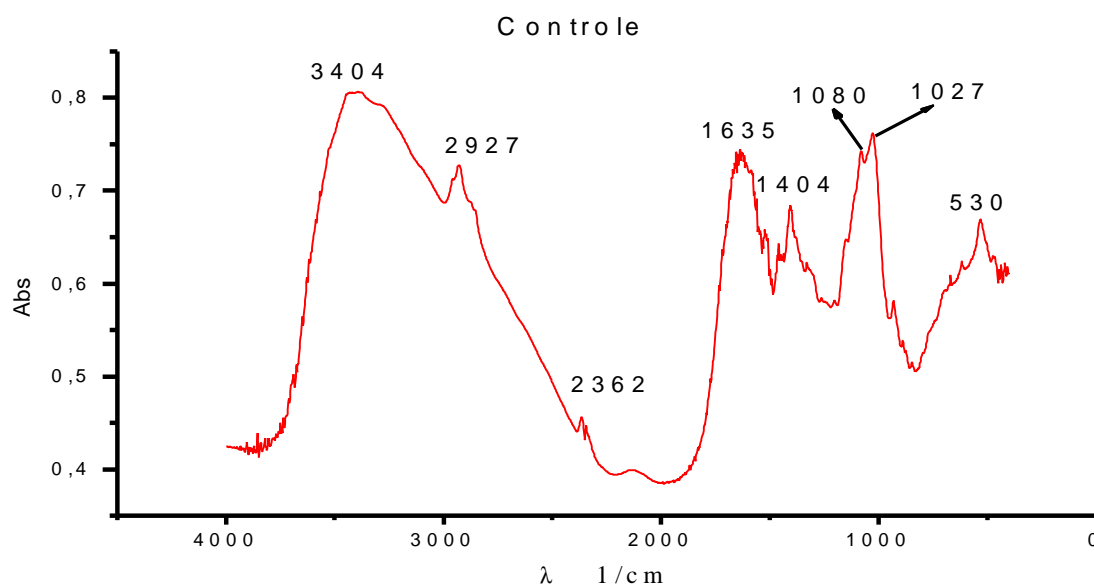


Fig.9 – Resultado da análise dos basidiocarpos controle do experimento 2 por FTIR.

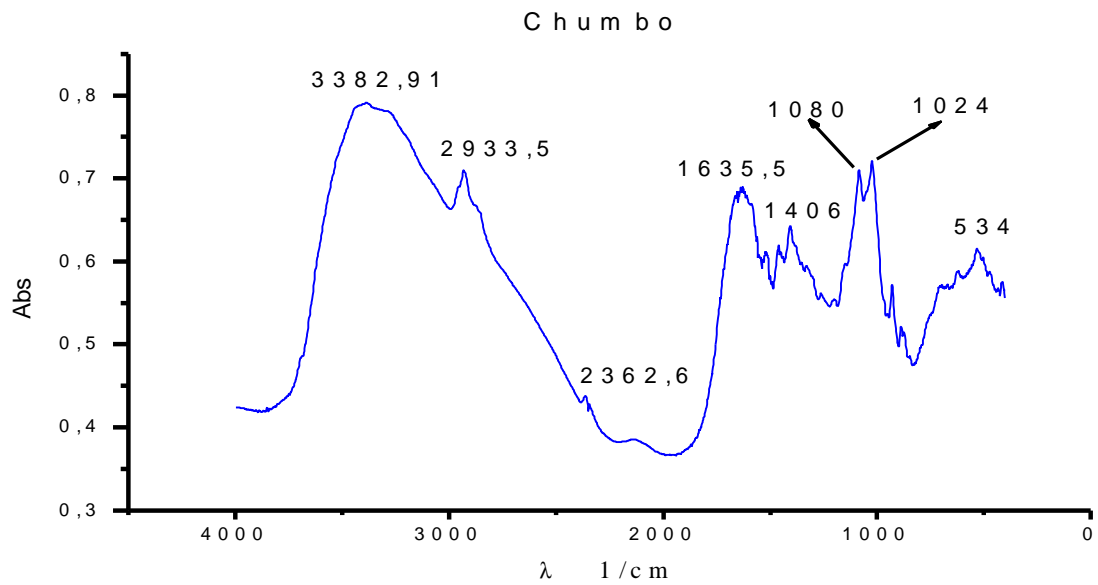


Fig.10 - Resultado da análise dos basidiocarpos contaminados com chumbo do experimento 2 por FTIR.

Observa-se que existem diferenças entres os espectros, mas não é possível identificar em quais regiões essas mudanças acontecem. Os espectros dos outros tratamentos estão localizados no apêndice.

## 5 - CONCLUSÕES

Analisando-se os dados obtidos pode-se concluir que:

- O fungo *Agaricus blazei* é capaz de concentrar metais pesados como cádmio, chumbo, cromo separadamente e quando colocados concomitantemente no mesmo canteiro;
- Observou-se que nos basidiocarpos analisados há maior acúmulo de cádmio em relação aos outros metais proporcionando no material analisado um decréscimo na porcentagem de proteínas bruta do basidiocarpo;
- Observou-se também que esse tipo de acúmulo em *A. blazei* ocorre não só em solo contendo maiores quantidades de metais, mas também em cultivos de condições comerciais cujos teores de metais são inferiores;
- Para o cultivo de *A. blazei* é recomendável a análise de metais: cádmio, cromo e chumbo do solo e composto para evitar altos acúmulos nos basidiocarpos;
- Em função dos dados obtidos pode-se inferir que outros metais também poderão ser acumulados pelos basidiocarpos de *A. blazei*.



## 6 - REFERÊNCIAS

ANVISA - Agencia de Vigilância Sanitária. Portaria nº 685 de 27 de agosto de 1998. Diário oficial da União, Brasília, DF, 27 de setembro de 1998. Disponível em:  
[www.anvisa.gov.br/legis/portarias/685\\_98.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/685_98.htm)

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) 1992. Case studies in environmental medicine - lead toxicity. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) 1999. Toxicological profile for lead. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta.

AZAB, M.S.; PETERSON, P.J.; YONG, T.W.K. Uptake of cadmium by fungal biomass. *Microbios*, v. 62, nº 250, p. 23-28, 1990.

BABICH, H.; STOTZKY, G. Sensitivity of various bacteria, including actinomycetes, and fungi to cadmium and influence of pH on sensitivity. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 33, p. 681-695, 1977.

BABICH, H.; STOTZKY, G. Effect of cadmium on fungi and interactions between fungi and bacteria in soil: influence of minerals and pH. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 33. n° 5, p. 1059-1066, 1977b.

BABICH, H.; STOTZKY, G. Effects and cadmium on the biota: influence on environmental factors. *Advances in Applied Microbiology*, v. 3, p. 55-117, 1998.

BEINFELD, H. Medical Mushrooms: Help Yourself to a Serving of Health. *Nature's Impact*, Dec-Jan, p. 57-60, 1997.

BALDRIAN, P. IN DER WIESCHE, C.; GABRIEL, J.; NERUD, F.; ZADRAČIL, F. Influence of cadmium and mercury on activities of ligninolytic enzymes and degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Pleurotus ostreatus* in soil. *Applied Environmental Microbiology*, v. 66, 2471–2478, 2000.

BELLINI, M.F., GIACOMINI, N.L., EIA, A.F., RIBEIRO, L.R., MANTOVANI, M.S. Anticlastogenic effect of aqueous extracts of *Agaricus blazei* on CHO-K<sub>1</sub> cells, studying different developmental phases of the mushroom. *Toxicology in Vitro*, v.17, p. 465-469, 2003.

BERGDAHL, I.A. Lead binding to delta - aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) in human erythrocytes. *Pharmacology & Toxicology* 81(4):153- 158, 1997a.

BHATTACHARJEE B; ROY, A; MAJUMDER, A.L. Beta-glucosidase of a white-rot fungus *Trametes gibbosa*. *Biochemistry Interation*, v. 28, 783–93, 1992.

MANSFIELD, S.D.; SADDLER, J.N.; GÜBITZ, G.M. Characterization of endoglucanases from the brown-rot fungi *Gloeophyllum sepiarium* and *Gloeophyllum trabeum*. *Enzyme Microbiological Technology*, v. 23, 133–140, 1998.

BOLAÑOS, R.A.C. Compostos e linhagens para cultivo de cogumelos comestíveis: *Agaricus*\_sp. Dissertação de mestrado, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 185p.,1993.

BOHUS, G. Investigations concerning the life processes of the cultivated mushroom. Mushroom Science, v.4, p. 86-131, 1959.

BONONI, V.L.; CAPELARI, M.; MAZEIRO, R.; TRUFEM, S.F.B. Cultivo de cogumelos comestíveis. 2.ed. São Paulo: Ícone, 206p., 1999.

BRAGA, G.C.; EIRA, A.F.; CELSO, P.G.; COLAUTO, N.B. Manual de cultivo de *A. blazei* Murr. “Cogumelo do sol”. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 1998. 44p.

BRAGA, G.C. Produtividade de *Agaricus blazei* Murill em função do ambiente de cultura, massa de substrato e camada de cobertura. Engenharia na Agricultura, vol. 14, n. 1, p. 39-51, 1999.

BRESSA, G.; CIMA, L.; COSTA, P. Bioaccumulation of Hg in the mushroom *Pleurotus ostreatus*. Ecotoxicological Environmental Safety, v. 16, 85–89, 1998.

BRUNNERT H, ZADRAZIL F. The cycling of cadmium and mercury between substrate and fruit bodies of *Agrocybe aegerita* (a fungal model system). Europe Journal Applied Microbiological Biotechnology, v.6, 389–395, 1979.

BRUNNERT H, ZADRAZIL F. Translocation of cadmium and mercury into the fruit bodies of *Agrocybe aegerita* in a model system using agar platelets as substrate. Europe Journal Applied Microbiological Biotechnology, v.12, 179–182, 1981.

CASTRO, N. Concentração de. Cádmio, chumbo, cromo, mercúrio e níquel nos rios do Estado de São Paulo e em peixes do rio Sorocaba. Dissertação para obtenção do título de mestre em Conservação e Manejo de Recursos, Área de Concentração Gestão Integrada de Recursos, Centro de Estudos Ambientais, UNESP – Rio Claro, Rio Claro, 150p., 2002.

CELSONO, P.G. Interações entre *Agaricus bisporus* e microrganismos termófilos isolados do substrato de cultivo do cogumelo. Dissertação de Mestrado em Biotecnologia. Instituto de Química. Universidade Estadual Paulista – Campus Araraquara, 84p, 1999.

CHANG, S.T.; MILES, P.G. Edible Mushroom and their cultivation. Boca Raton CRC Press, 345p., 1989.

CHRISTENSEN, M.A. View of fungal ecology. Mycologia, v. 81, p. 1-19, 1989.

CHIHARA, G. Antitumour and immunological properties of polysaccharides from fungal origin. In: International scientific congress on the cultivation of edible fungi; Mushroom Science, 10, 1978, France. Proceedings...France, v. 2, p. 797-814, 1978.

CIHANGIR, N.; SAGLAM, N. Removal of cadmium by *Pleurotus sajor-caju* basidiomycetes. Acta Biotechnologica, v.19, 171–177, 1999.

COCHRAN, J.K.; FRIGNAMI, M.; SALAMANCA, M.; BELLUCCI, L.G.; GUERZONI, S.; Marine Chemistry., n. 62, v.15, 1998.

CORMICAN, T., STAUTON, L. Factors in mushroom compost productivity. In: MAHER, M.J. (Ed.) Science and Cultivation of Edible Fungi. Rotterdam: Balkema, v. 1, p. 227-34, 1991.

COSTA, F.W.; NAPUCENO, J.C. Ausência do efeito genotóxico e antígenotóxico do chá de “cogumelo do sol” (*Agaricus blazei* Murill), contra a ação genotóxica do quimioterápico ciclofosfamida em *Drosophila melanogaster*. Relatório técnico final apresentado ao PIBIC, Universidade Federal de Uberlândia, campus Umuarama – MG.,20p., 2001.

COSTA, F.W.; NAPUCENO, J.C. Cogumelo do sol como um modulador de efeitos genotóxicos em células somáticas de *Drosophila melanogaster*. Trabalho de conclusão de curso apresentado a Universidade Federal de Uberlândia, campus Umuarama – MG.,14p., 2004.

DELMAS, J. Cultivatio in western counties growing in caves. In: CHANG, S.T. e HAYES, W.A. (Eds). The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms. Academic press, p. 251-293, New York, 1978.

DELÚ, M.A.F. Caracterização de basidiocarpos desidratados de *Agaricus blazei*. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Lavras, 2003.

DENADAI, R.; ALVEZ DE LIMA, P.L.; SALVADORE, D.M.F.; EIRA, A.F. ; BAZO, A.P.; RIBEIRO, L.R.. The protective effect of mushroom has on the genotoxicity induced by cyclophosphamide. IN: Anais do Quinto Congresso Latino Americano de Metagênese e teratogênese Ambiental, Curitiba, p. 247, 1999.

DERIKX, P.J.L.; CAMP OP DEN, H.J.M.; BOSCH, W.P.G.M.; VOGELS, G.D.; GERRITS, J.P.G.; VAN GRIENSVEN, L.J.L.D. Production of methane during preparation of mushroom compost. Mushroom Science, v.12, nº1, p. 353-362, 1989.

DERIKX, P.J.L.; CAMP OP DEN, H.J.M; VOGELS, G.D; VAN GRIENSVEN, L.J.L.D.; STRAATSMA, G. Respiratory path ways in *Agaricus bisporus* and *Scytalidium thermophilum*. FEMS Microbiology Letter, v. 66, p. 307-312, 1990.

DHAWALE, S.S.; LANE, A.C.; DHAWALE, S.W. Effects of mercury on the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Bullet. Environmental Contamination Toxicological*, v. 56, 825–832, 1996.

DOMINGOS, R.N. Acúmulo de cádmio por *Saccharomyces cerevisiae* fermentado em mosto de melão. Piracicaba, 63p, Dissertação de (mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 1996.

EIRA, A.F. Cogumelos comestíveis e medicinais: tecnologia de cultivo, caracterização bioquímica e efeitos protetores dos cogumelos *Agaricus blazei* e *Lentinula edodes*. Faculdade de Ciências Agrônômicas, Unesp Botucatu, 136p., 2003.

EIRA, A.F.; MINHONI, M.T.A. Manual teórico-prático de cultivo de cogumelos comestíveis. 2 ed. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 115p. 1997.

FALIH, A.M. Impact of heavy metals on cellulolytic activity of some soil fungi. *Kuwait Journal Science Engineer*, v. 25, 397–407, 1998.

FAVERO, N.; BRESSA, G.; COSTA, P. Response of *Pleurotus ostreatus* to cadmium exposure. *Ecotoxicological Environmental Safety*, v. 20, 1–6, 1990.

FDA-U.S. Food And Drugs Administration Guidance Documents for Trace Elements in Sea Food-Arsenic, cadmium, chromium, lead, nickel, 1993. FDA, Center for Food Safety and Applied Nutrition, FDA, Washington D.C., 2000. Disponível em:

[www.cfsan.fda.gov/~frf/guid-sf.html](http://www.cfsan.fda.gov/~frf/guid-sf.html)

FERMOR, T.R.; RANDLE, P.E.; SMITH, J.F. Compost as a substrate and its preparation. In: FLEGG, P.B., SPENCER, D.M., WOOD, D.A. (Ed) The Biology and Technology of the Cultivated Mushroom. CHICHESTER: John Wiley, cap. 6, p. 81-109, 1985.

FERNANDES, J.C.; HENRIQUES, F.S. Biochemical, physiological and structural effects of excess of copper in plants. The Botanical Review, v. 57, p. 246-273, 1991.

FERREIRA, J.E.F. Produção de cogumelos. Guaíba: Agropecuária, 137p., 1998.

FIDALGO, O.; GUIMARÃES, S.M.P.B. A situação do cogumelo comestível no Brasil e no exterior. Em: Anais do I encontro nacional sobre cogumelos comestíveis. Instituto de Botânica, São Paulo, p. 7-24, 1985.

FLEGG, P.B. The effect of shaking up the casing layer on the growth of micelial standard and on yield. Mushroom Science, v. 6, n°1, 359-370, 1985.

GABARDINO, J.R.; HAYES, H.C.; ROTH, D.A.; ANTWEILER, R.C.; BRINTON, T.I. E TAYLOR; HOWARD, E. Heavy metals in the Mississippi river U. S. Geological Survey, circular 1135, Reston, Virginia, 1995.

GADD, G.M.; GRIFFITHS, A.J. Microorganisms and heavy metal toxicity microbiology. Ecology, v. 4, p. 303-317, 1975.

GADD, G.M. Biosorption. Chemistry & industry, v. 2, p. 421-426, 1990.

GADD, G.M. Interactions of fungi with toxic metals. New Phytologist, v. 124, p. 25-60, 1993.

GABRIEL, J.; KOFRONOVA, O.; RYCHLOVSKY, P.; KRENZELOK, M. Accumulation and effect of cadmium in the wood-rotting basidiomycete *Daedalea quercina*. Bulletin Environmental Contamination Toxicology, v.57, 383–390, 1996.

GERHARDSSON, L.; SKERFVING, S. Concepts on biological markers and biomonitoring for metal toxicity. In: CHANG L. W.; MAGOS, L.; SUZUKI, T. Toxicity of metals. London: CRC Press, cap. 6, p. 81-107, 1996.

GOMES, C.M.N.; MENDONÇA-HAGLER, C.S.L.; SAVVAIDIS, I. Metal bioremediation by microorganisms. Revista Brasileira de Microbiologia, São Paulo, v. 29, p. 85-92, 1998.

GOYER, R.A. Toxic and Essential Metal Interactions. Annual Review of Nutrition. Palo Alto, v. 17, p. 37-50, 1997.

GRACHER, A.H.P. Caracterização estrutural de polissacarídeos obtidos do corpo de frutificação de *Ganoderma multiplicatum*. Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de mestre em Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Paraná, 80p., 2005.

GUILLÉN, F.; MARTÍNEZ, A.T.; MARTÍNEZ M.J. Production of hydrogen peroxide by aryl alcohol oxidase from the ligninolytic fungus *Pleurotus eryngii*. Applied Microbiology Biotechnology; v.32, p.465–469, 1990.

HAYES, W.A.; RANDLE, P.E.; LAST, F.T. The nature of the microbial stimulus affecting sporophore formation in *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. Annual Applied Biology, v.64, p.177-187, 1969.

HAYES, W.A.. The biology and cultivation of edible mushrooms. In: CHANG, S.T. & HAYES, W.A. (Eds) Academic press, Biological Nature p. 192-215, New York, 1978.



Hazardous Chemicals In Human and Environmental Health. World Health Organization-WHO, Geneva, 2002a. Disponível em:

[who.int/pcs/training-material/hazardous-chemical/pre-pages.html](http://who.int/pcs/training-material/hazardous-chemical/pre-pages.html)

HERRERA, O.M. Produção, economicidade e parâmetros energéticos do cogumelo *Agaricus blazei*: um enfoque de cadeia produtiva. Tese de doutorado em Agronomia. Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp - campus Botucatu. Botucatu, 145p., 2001.

HOBBS, C. Medicinal mushrooms: an exploration of tradition, healing and culture. 2 ed. Santa Cruz: Botanica Press. 251p., 1995.

HOWLETT N.G.; AVERY, S.V. Induction of lipid peroxidation during heavy metal stress in *Saccharomyces cerevisiae* and influence of plasma membrane fatty acid unsaturation. *Applied Environmental Microbiology*, v.63, 2971–2976, 1997.

HU, H. Bone lead as a new biologic marker of lead dose: recent findings and implications for public health. *Environmental Health Perspectives* 106 (Suppl.4): 961- 967, 1998.

HUANG, C.P.; HUANG, C.; MOREHART, A.L. The removal of Cu II from dilute aqueous solution by *Saccharomyces cerevisiae*. *Water Research.*, v. 24, p. 433-439, 1990.

ITO, H.; AMANO, H.; NODA, H. Inhibitory action of a (1 → 6)  $\alpha$ -D-glucan-protein complex (F III-2-b) isolated from *Agaricus blazei* Murill (“himematsutake”) on meth a fibrosarcoma-bearing in mice and its antitumor mechanism. *Journal. Pharmaceutical. (Japan)*. v. 66, p. 265-71, 1994.

IZAWA, S.; INOUE, Y. A screening system for antioxidants using thioredoxin-deficient yeast: discovery of thermostable antioxidant activity from *Agaricus blazei* Murill. *Applied Microbial and Cell Physiology*, v. 64, p. 537-542, 2004.

IZUMI, Y.; FURUYA, Y.; YAMADA, H. Purification and properties of pyranose oxidase from basidiomycetous fungus. *Agriculture Biological Chemistry* ; v.54, p. 1393–1399,1990.

JONG, S.C.; DONOVICK, R. Antitumor and antiviral substances of fungi. *Advanced Applied Microbiology*, v. 34, p. 183-262, 1989.

KALAC, P.; SVABODA, L. A review of trace element concentrations in edible mushrooms. *Food Chemistry*, v. 69, 273–281, 2000.

KAPPOR, A.; VIRARAGHAVAN, T. Fungal biosorption-an alternative treatment option for heavy metal bearing wastewartes: a review. *Bioresource Technology*, v. 53, p. 195-206, 1995.

KAWAGISHI, H.; INAGAKI, R.; KANAO, T.; MIZUNO, T.; SHIMURA, K.; ITO, H., HAGIWARA, T.; NAKAMURA, T. Formolysis of a potent antitumor (1 → 6)  $\alpha$ -D-glucan–protein complex from *Agaricus blazei* fruiting bodies and antitumor activity of the resulting products. *Carbohydrate Research*. v. 12, p. 939-403, 1990.

KIMURA, Y.; TADASHI, K.; TAKAKU, T.; SUMIYOSHI, M.; BABA, K. Isolation of na anti-angiogenic substance from *Agaricus blazei* Murill: Its antitumor and antimetastatic actions. *Cancer Science*, v. 95, n. 9, p. 758-764, 2004.

KRATOCHVIL, D.; PIMENTEL, P.; VOLESKY, B. Removal of trivalent an hexavalent chromium by seaweed biosorbent. *Environmental Science Techonolical* (in press) 1998.

KOPYTOWSKI, J.F.; MINHONI, M.T.; EIRA, A.F.; SILVEIRA, A.R. Efeito da densidade do substrato por área de cultivo na produtividade de *Agaricus blazei* Murill. In: Congresso Brasileiro de Microbiologia, 21, 2001, Foz do Iguaçu. Resumos... Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 2001.

KOPYTOWSKI, J.F. Relação C/N e produção de fontes nitrogenadas na produtividade de *Agaricus blazei* Murill e poder calorífico do composto. Tese de mestrado em Agronomia. Faculdade de Ciências Agrônômicas da Unesp – campus Botucatu. Área de concentração em Energia na Agricultura. Botucatu, p.351, 2002.

KÜSER, E.; WILLIAMS, S.T. Selection of media for isolation of *Streptomyces nature*, London, v. 202, p. 928 – 929, 1964.

KUYUCAK, N.; VOLESKY, B. Accumulation of cobalt by marine alga. Biotechnology and Bioengineering, v.33, p.809-814, 1989.

LABORDE, J.; LANZI, G.; FRANCESCUTTI, B.; GIORDANI, E. Indoor composting: general principles and large scale development in Italy. In: CHANG, S.T., BUSWELL, J.A., CHIU, S.W. (Ed) Mushroom Biology and Mushroom Products. Hong Kong: The Chinese University Press, p. 93-113, 1993.

LEE, Y.L.; KM, H.J.; LEE, M.S.; KIM, J.M.; HAN, J.S.; HONG, E.K.; KWON, M.S.; LEE, M.J. Oral administration of *Agaricus blazei* (H<sub>1</sub> Strain) inhibited tumor growth in a sarcoma 180 inoculation model. Experimental Animal, 52 (5), p. 371-375, 2003.

LEVAI, J. Nutritional and utilizable value of some cultivated mushroom. Mushroom Science, v. 12, n°1, p. 295-304, 1989.

LEVANON, D.; DANAI, O.; MASAPHY, S. Chemical and physical parameters in recycling organic wastes for mushroom production. Biological Wastes, v. 26, p. 341-8, 1988.

LUIZ, R.C.; JORDÃO, B.Q.; EIRA, A.F.; RIBEIRO, L.R.; MANTOVANI, M.S. Mechanism of anticlastogenity of *Agaricus blazei* mushroom organic extracts in wild type

CHO(K<sub>1</sub>) and repair deficient (xrs5) cells by chromosome aberration and sister chromatid exchange assays. *Mutation Research*, v 528, p. 75-79, 2003.

MAHLER, K.V.; DEFONSO L.R. Respiratory cancer among chloromethyl ether workers. *Journal National - CANCER INSTITUTE.*, v. 78, p. 839- 43, 1987.

MANDAL, T.K.; BALDRIAN, P.; GABRIEL, J.; NERUD, F.; ZADRAČIL, F. Effect of mercury on the growth of wood-rotting basidiomycetes *Pleurotus ostreatus*, *Pycnoporus cinnabarinus* and *Serpula lacrymans*. *Chemosphere*, v. 36, 435–440, 1998.

MANSFIELD, S.D.; SADDLER, J.N.; GÜBITZ, G.M. Characterization of endoglucanases from the brown-rot fungi *Gloeophyllum sepiarium* and *Gloeophyllum trabeum*. *Enzyme Microbiological Technology*, v. 23, 133–140, 1998.

MANZI, P.; AGUZZI, A.; VIVANTI, V.; PACI, M.; PIZZOFERRATO, L. Mushrooms as a source of functional ingredients. In *Euro. Food chemistry x European conference on: Functional foods*, (pp. 86–93). A new challenge for the food chemistry, v.1 22–24, 1999.

MATTHEWS, T.H.R.J.; DOYLE and STREIPS, U.N. Contribution of peptidoglycan to the binding of metal ions by cell wall of *Bacillus subtilis*. *Currents Microbiology*, v. 3, p 51-53, 1979.

MATTIAZZO-PREZOTTO, M.M. Comportamento de cobre, cádmio, cromo, níquel e zinco adicionado a solos de clima tropical em diferentes valores de pH. Piracicaba, 197p. Tese (Livre-docência) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 1994.

MELGAR, M.J.; ALONSO, J.; PEREZ-LOPEZ, M.; GARCIA, M.A. Influence of some factors in toxicity and accumulation of cadmium from edible wild macrofungi in NW Spain. *Journal Environmental Science Health B*, v.33, 439–455, 1998.

MENOLI, R.C.R.; MANTOVANI, M.S.; RIBEIRO, L.R.; GÜNTER, S.; JORDÃO, B.Q. Antimutagenic effects of the mushroom *Agaricus blazei* Murril extracts on V 79 cells. Mutation Research, n. 496, p. 5-13, 2001.

Ministério da Agricultura. Disponível em: [www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br)

MIZUNO, T.; HAGIWARA, T.; NAKAMURA, T.; ITO, H.; SHIMURA, K.; SUMIYA, T.; ASAKURA, A. Antitumor activity and some properties of water-soluble polysaccharides from "Himematsutake", the fruiting body of *Agaricus blazei* Murill. Agriculture Biological Chemistry (Japan), v. 54, p. 2889-2896, 1990.

MOLENA, O. Dificuldades na produção e divulgação de cogumelos. Em: Anais do I encontro nacional sobre cogumelos comestíveis. Instituto Botânico, p. 25-33, São Paulo, 1985.

MILLER, F.C.; MACAULEY, B.J. Substrate usage and odours in mushrooms composting. Australian Journal Experience Agriculture., v.29, p. 119-24, 1989.

NAKAJIMA, A.; SAKAGUCHI, T. Selective accumulation of heavy metals by microorganisms. Applied Microbiology Biotechnology, v.24, p.59-64, 1986.

NAKAJIMA, A.; SHIDA, T.; KOGA, M.; TAKEUCHI, T.; MAZDA, O.; TAKEUCHI, M. Effect of hot water extract from *Agaricus blazei* Murill on antibody-producing cells in mice. International Immunopharmacology, v 2, p. 1205-1211, 2002.

NOURBAKHSH, M.; SAG, Y.; ÖZER, D.; AKSU, Z.; ÇAGLAR, A. A comparative study of various biosorbents for removal of chromium (VI) ions from industrial wastewaters. Process Biochemistry, v.29, p.1-5, 1994.

OLIVEIRA, M.J.; JORDÃO, B.Q.; RIBEIRO, L.R.; EIRA, A.F.; MANTOVANI, M.S. Anti-genotoxi effect of aqueous extracts of sun mushroom (*Agaricus blazei* Muriil linhage 99/6) in mammalian cell in vitro. Food and Chemical Toxicology, v. 40, 1775-1780, 2002.

OHNO, N.; FURUKAWA, M.; MIURA, N.N.; ADACHI, Y.; MOTOI, M.; YADOMAE, T. Antitumor  $\beta$ -lucan from the cultured fruit body of *Agaricus blazei*. Biological.Pharmacological Bulletin, 24 (7), p. 820-828, 2001.

OOI, V.E.C.; LIU, F. Immunomodulation and anti cancer activity of polysaccharide-protein complexes. Currents Mededical Chemistry., v. 7, p. 715-729, 2000.

OSAKI, Y.; KATO, T.; YAMAMOTO, K.; OKUBO, J.; MIYAZAKI, T. Antimutagenic and bactericidal substances in the fruit body of a basidiomycete *Agaricus blazei*, Jun-17. Carbohydrate Research., v. 114, p. 342-350, 1994.

PALMIERI, G.; GIARDINA, P.; BIANCO, C.; FONTANELLA, B; SANNIA, G. Copper induction of laccase isoenzymes in the ligninolytic fungus *Pleurotus ostreatus*. Applied Environmental Microbiology, v. 66, 920-924, 2000.

PANDAY, K.K.; PRASAD, G.; SINGH, V.N. Removal of Cr (VI) from aqueous solutions by adsorption on fly ash-wollastonite. Journal Chemistry Techenology Biotechnology, v. 34A, p.367-374, 1984.

PASCHOLATTI, S.; STANGARLIN, J.R.; PICCININ, D. Cogumelos: cultivo e comercialização (Shiitake e Cogumelo do Sol). SEBRAE/MT, (Coleção Agoindústria), v.7, 1998, 85p.

PEDROSO, A.; TAMAI, F. Análise e composição química de *Agaricus blazei* Murril. Apostila de Estudo da USP - Faculdade de Ciências Farmacêuticas (mimeo), 2001.

PRADO, F.L.G.; DOMINGOS, R.N.; SILVA, S.M.G. Acúmulo de cádmio por *Saccharomyces cerevisiae* fermentando mosto de melão. Science Agriculture, v. 55, n. 1, p. 128-132, 1998.

PURKAYASTHA, R.P.; MITRA, A.K.; BHATTACHARYYA, B. Uptake and toxicological effects of some heavy metals on *Pleurotus sajor-caju*(Fr.). Ecotoxicol Environ Safety;27:7-13,1994.

QUIMIO, T.H., CHANG, S.T., ROYSE, D.J. The technical guidelines for mushroom growing the tropics. Roma: FAO, 155p, 1990.

ROSA, L.H.; PIMENTEL, P.F; LACERDA, I.A.C.; ROCHA, O.G.F.; GOMES, N.C.M. Capacitação de *Aspergillus niger* para remoção de cádmio na presença de íons complexantes. Anais da II Reunião Nacional de Microbiologia Aplicada ao Meio Ambiente, 1998.

ROSS, I.S. Some effects of heavy metals on fungal cells. Transactions British Society, v. 64 (2), p. 175-193, 1995.

ROSS, R.C.; HARRIS, P.J. An investigation into the selective nature of mushroom compost. Science Horticulture, v. 19, p. 55-64, 1983.

SAG, Y.; KUTSAL, T. Application of adsorption isotherms to chromium adsorption on *Z. ramigera*. Biotechnology Letters, v.11, n.2, p.141-144, 1989.

SANÍN, L.H.; COSSÍO, T.G.; ROMIEU, I.; AVILA, M.H. Acumulación de plomo en hueso y sus efectos en la salud. Salud Pública de México, 40(4):359- 368, 1998.

SHARMA, D.C.; FORSTER, C.F. Removal of hexavalent chromium using sphagnum moss peat. Water Research, v. 27, n.7, p.1201-1208, 1993.

SMITH, J.F. Conservation of materials during composting. *Mushroom Science*, v. 10, n°2, p. 55-68, 1979.

STERN, A.C.; *Air Pollution*, Academic Press: London, 1977.

STOHS, S.J.; BAGCHI, D. Oxidative mechanisms in the toxicity of heavy metals. *Free Radic Biological Medicine*, v. 18, 321–36, 1995.

STRANDBERG, G.W.; SHUMATE, S.E.; PARROT, J.R. Microbial cells as biosorbents for heavy metals: accumulation of uranium by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied Environmental Microbiology*, v. 41, p. 237-245, 1981.

TAKAKU, T.; KIMURA, Y.; OKUDA, H. Isolation of antitumor compound from *Agaricus blazei* Murrill and its mechanism of action. *The Journal of Nutrition*, 131 (5), p. 1409-1413, 2001.

TANGO, W.Y. Panorama técnico da cultura do cogumelo em Mogi das Cruzes. In: *Anais do I encontro de cogumelos comestíveis*. Instituto de Botânica, São Paulo, p. 35-42, 1985.

TEIXEIRA, E.M. *Cogumelo do sol*. Jaboticabal: FUNEP, 38p, 1999.

THAM, L.X.; MATSUHASHI, S; KUME, T. Responses of *Ganoderma lucidum* to heavy metals. *Mycoscience*, v. 40, 209–13, 1993.

TOBIN, J.M.; WHITE, C.; GADD, M.G. Metal accumulation by fungi: applications in environmental biotechnology. *Journal of Industrial Microbiology*, v.13, p. 126-130, 1994.



TOMSETT, A.B. Genetics and molecular biology of metal tolerance in fungi In: JENNINGS, D. H. (Ed). Stress tolerance of fungi – New York: MARCEL DAKKER, Inc, cap. 3, p. 69-95, 1993.

VALLE, B.L.; ULMER, D.D. Biochemical effects of mercury, cadmium and lead. Annual Review of Biochemistry, v. 41, p. 91-128, 1972.

VARMA, A. Handbook of atomic absorption análisis. 3: ed. Boca Ranton: CRC Press, v. 2, cap. 02, p. 73-184: Group IIB elements (Zn, Cd, Hg), 1988.

VEDDER, P.J.C. Cultivo Moderno Del Champiñón. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 1991. 370p.

VOLESKY, B.; HOLAN, Z.R. Biosorption of heavy metals. American Chemical Society and American Institute of Chemical Engineers, p. 235-251, 1995.

WASSER, S.P. Medicinal mushroom as a source of antitumor and immunomodulation polysaccharides. Applied Microbiology Biotechnology, v. 60, p. 258-274, 2002.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION; Guidelines for Air Quality, WHO: Geneva, 2002a.

WINTER, M. WEDELEMENTS, THE PERIODIC TABLE ON THE WWW-Arsenic, cadmium, copper, chromium, lead, mercury, nickel, 2002. Disponible em: [www.webelements.com](http://www.webelements.com)

WITTAKER, R.H. On the broad classification of organisms. The Quarterly Review of Biology. New York, v. 37, n.1, p. 210-226. Jan/Mar. 1959.

## APÊNDICE

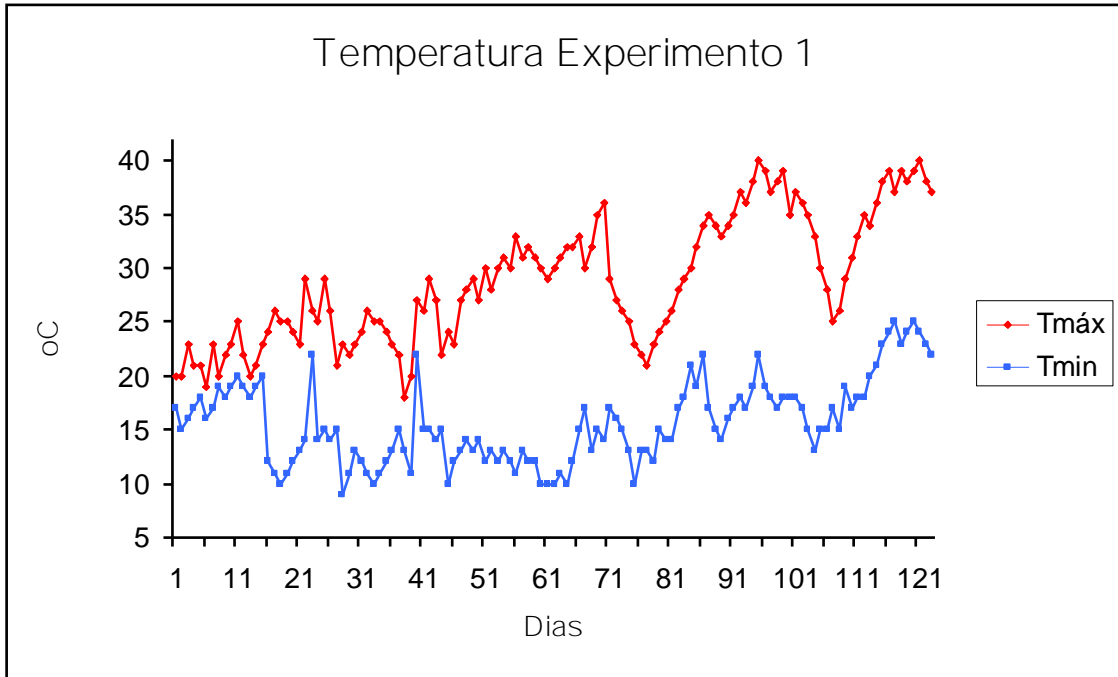


Fig.11 - Temperaturas máximas e mínimas recolhidas para o experimento 1.

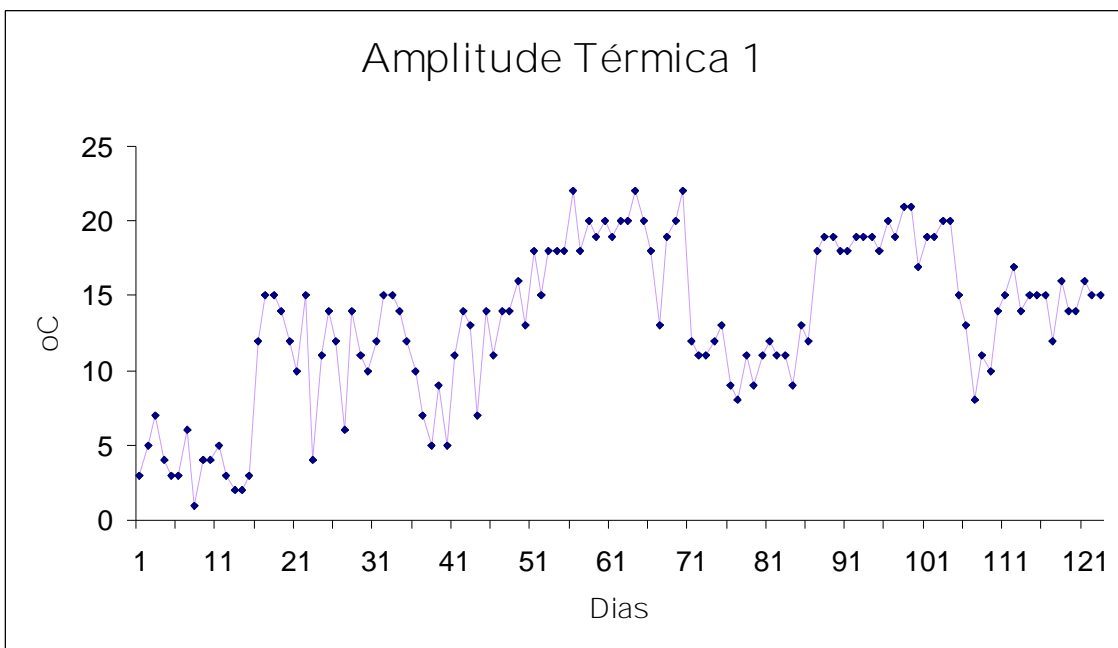


Fig. 12 – Amplitude térmica para o experimento 1.

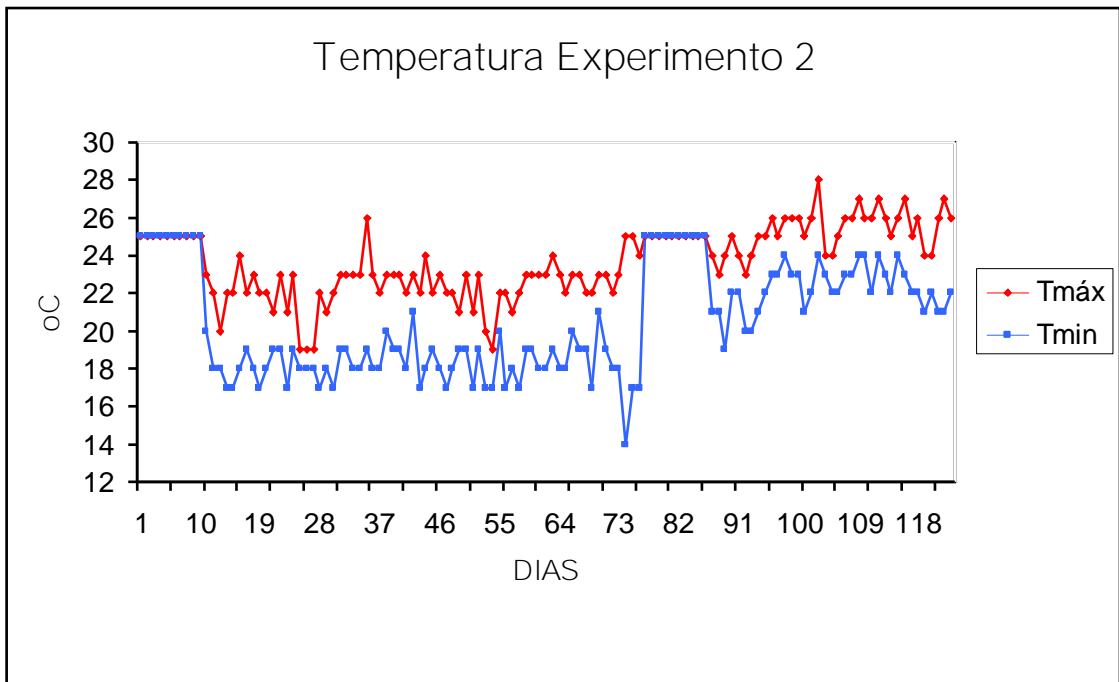


Fig. 13 - Temperaturas máximas e mínimas recolhidas para o experimento 2.

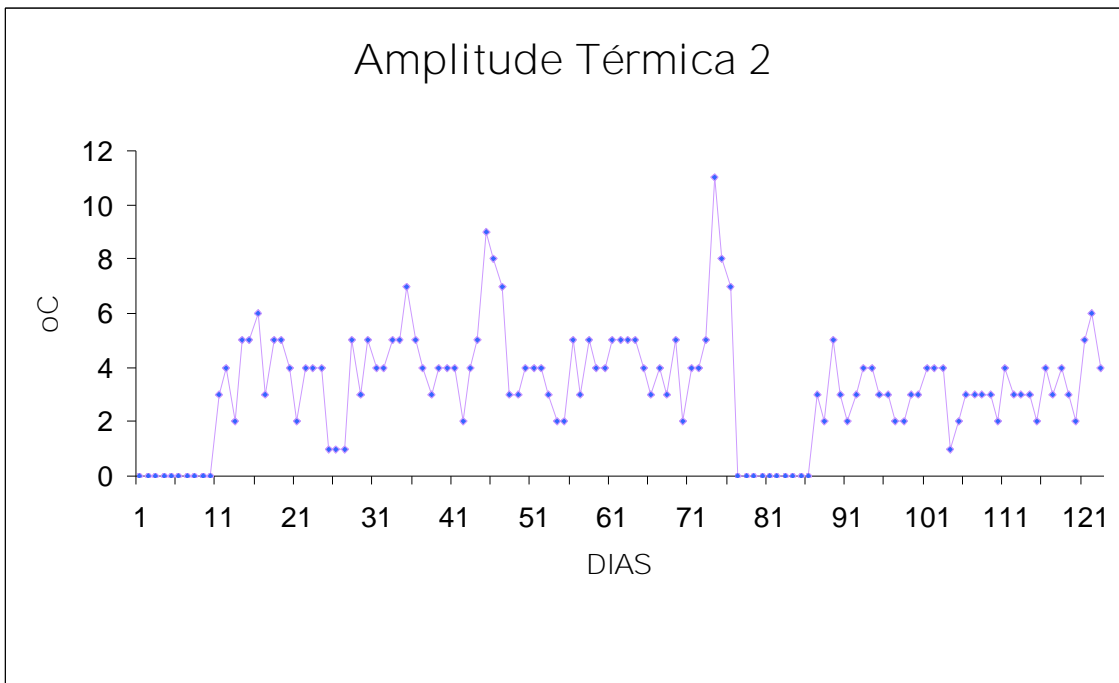


Fig 14 – Amplitude térmica par o experimento 2.

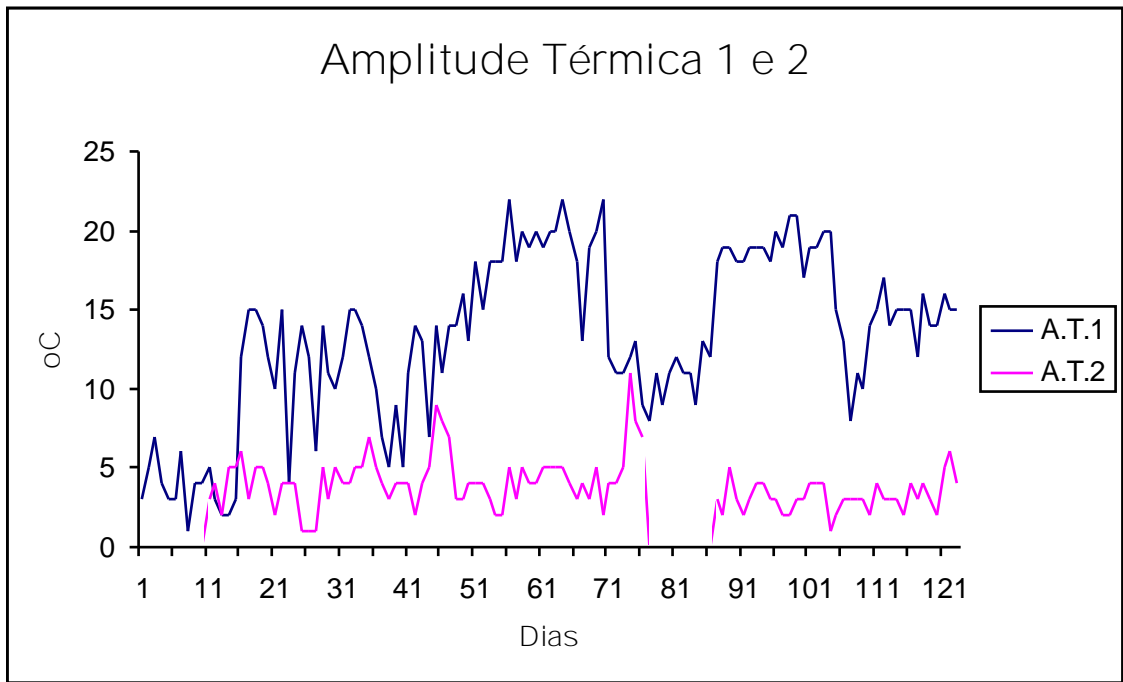


Fig.15 – Comparação entre as amplitudes térmicas dos experimentos 1 e 2.

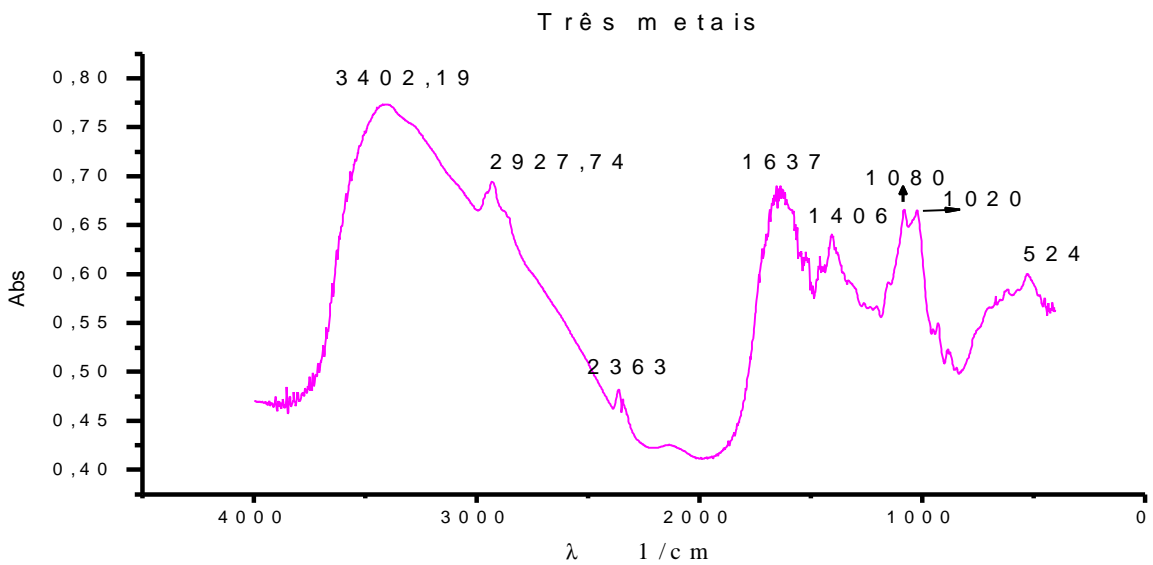


Fig. 16 - Espectro FTIR para basidiocarpos contaminados com os três metais do experimento 2.

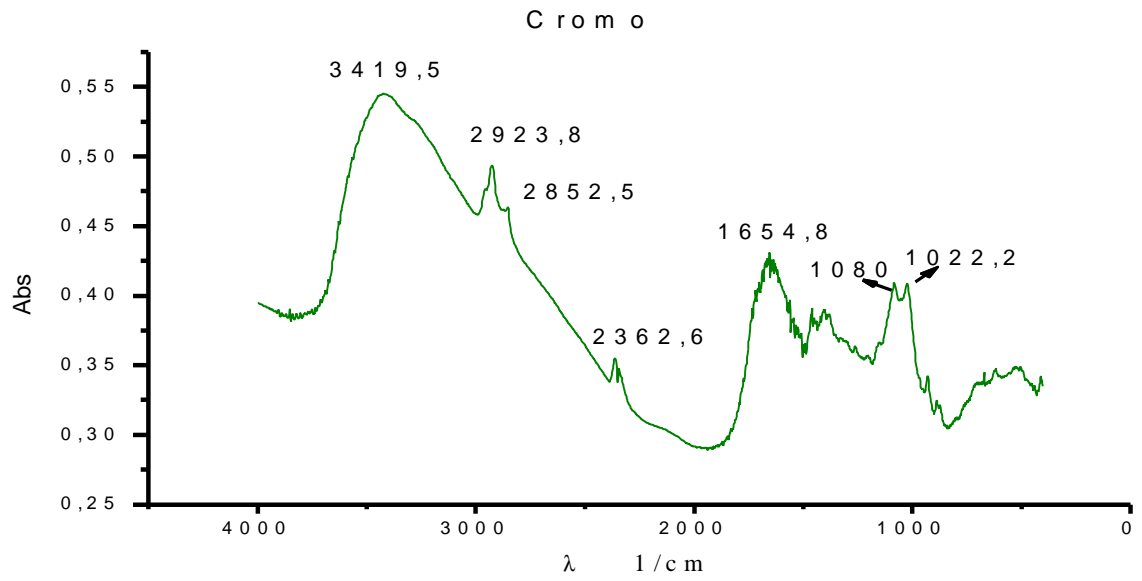


Fig. 17 – Espectro FTIR para basidiocarpos contaminados com cromo do experimento 2.

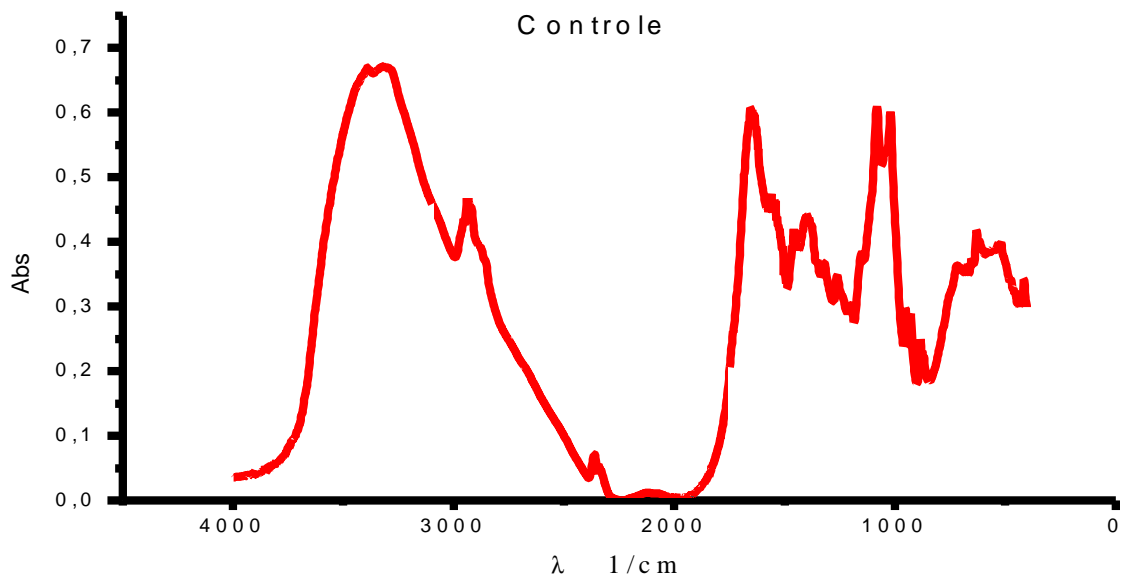


Fig. 18 – Espectros FTIR para basidiocarpos controle do experimento 3.

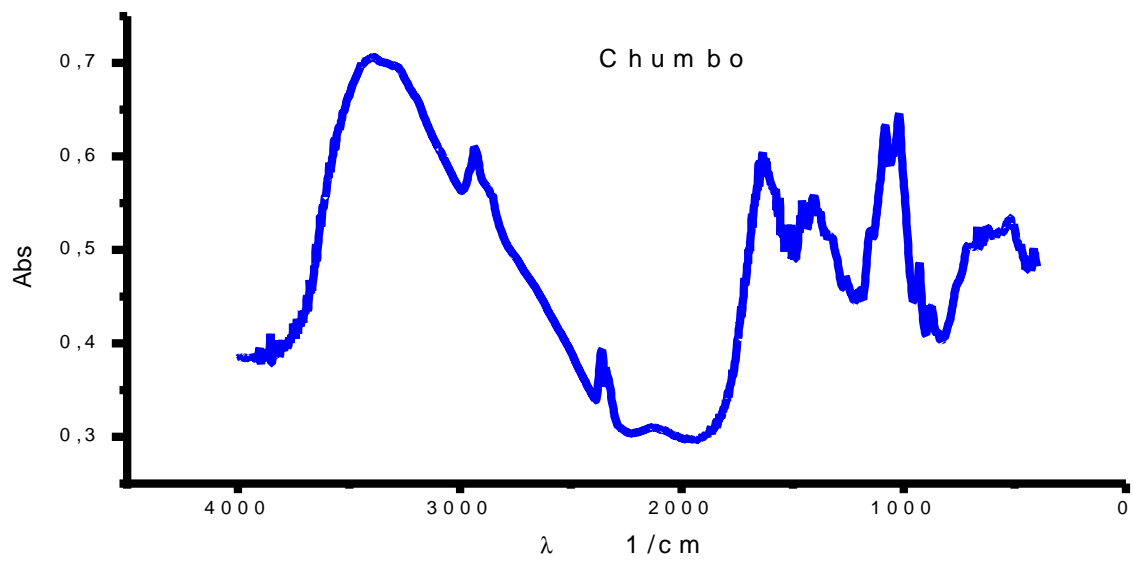


Fig. 19 – Espectros FTIR para basidiocarpos contaminados com chumbo para o experimento 3.

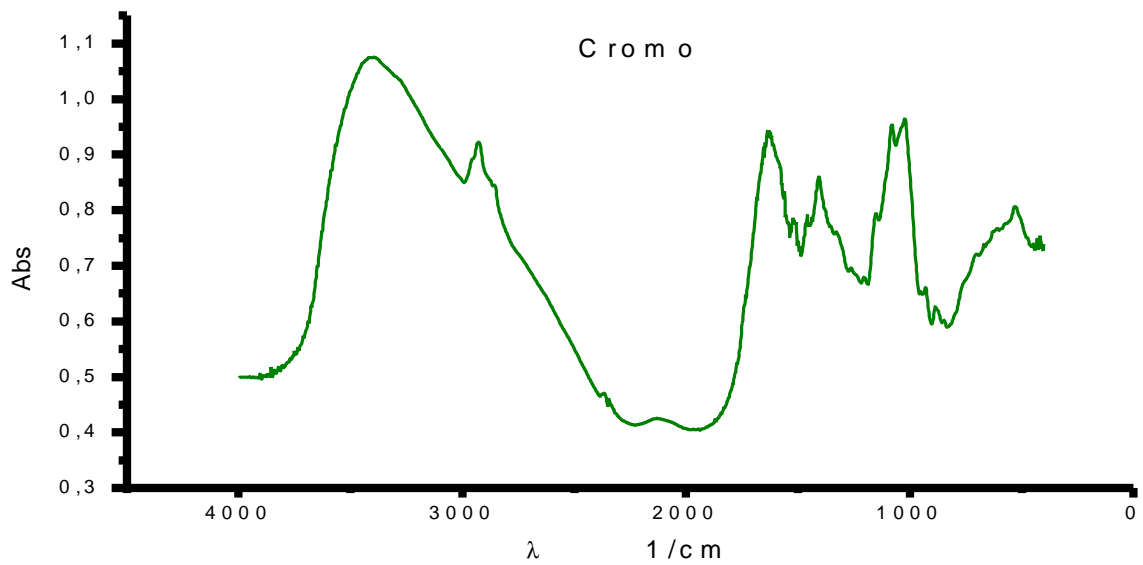


Fig. 20 – Espectros FTIR para basidiocarpos contaminados com cromo para o experimento 3.

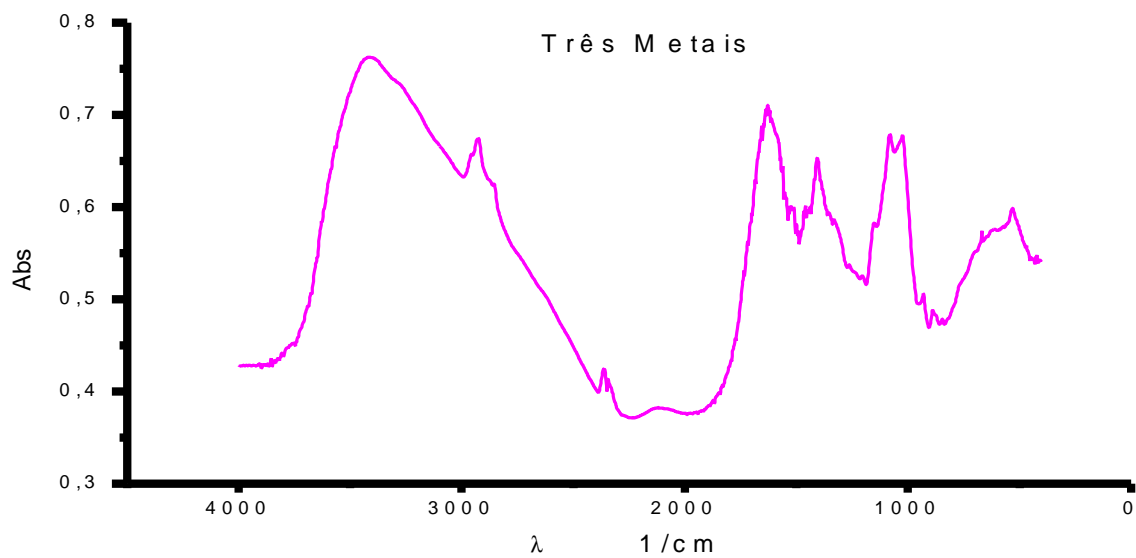


Fig. 21 – Espectros FTIR para basidiocarpos contaminados com os três metais para o experimento 3.

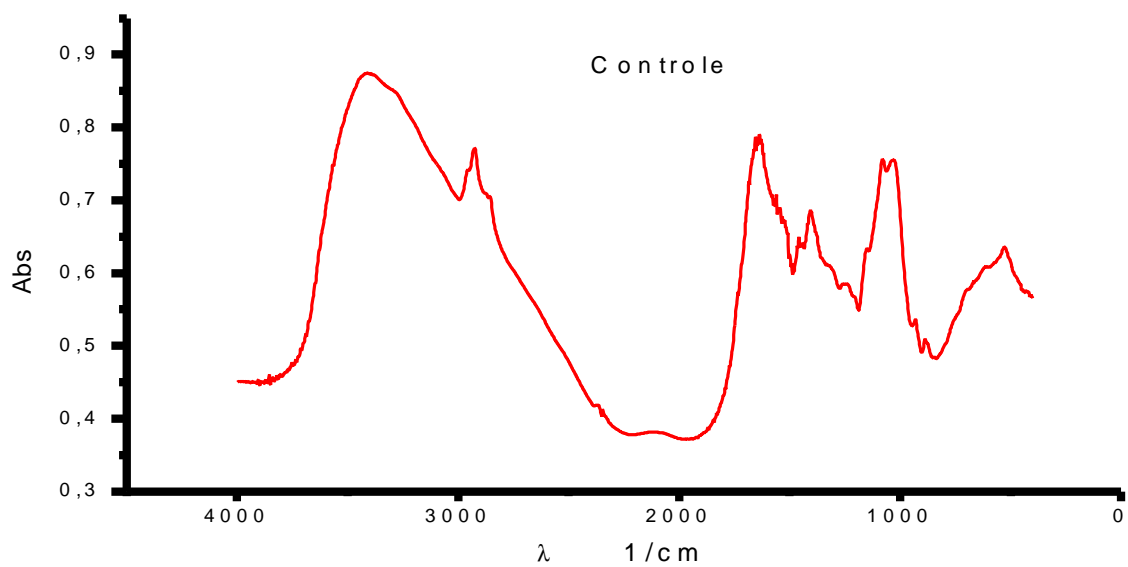


Fig. 22 – Espectros FTIR para basidiocarpos controle do experimento 4.

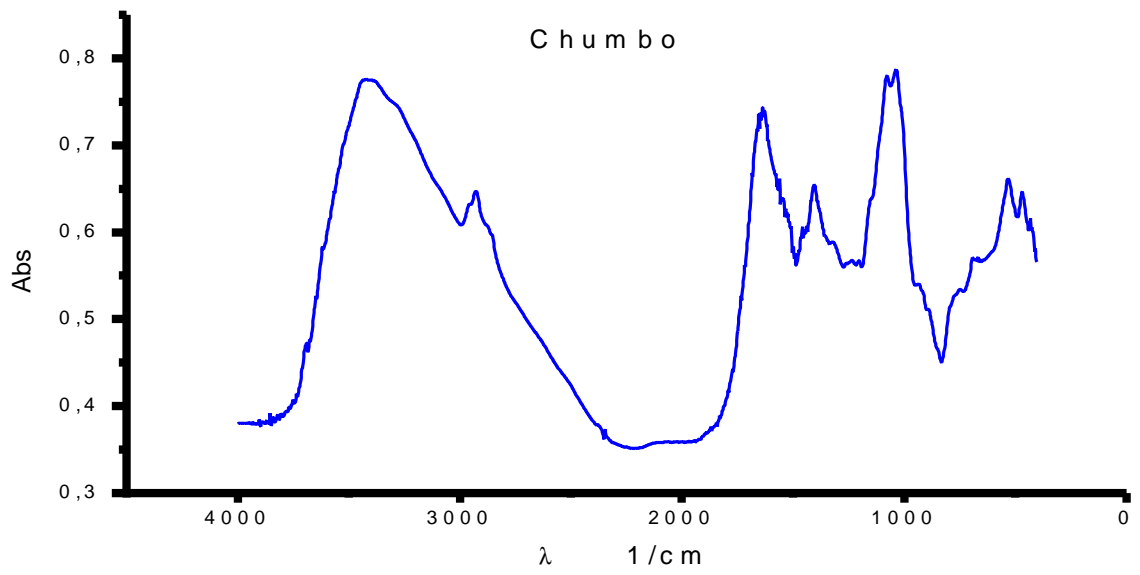


Fig. 23 – Espectros FTIR para basidiocarpos contaminados com chumbo para o experimento 4.

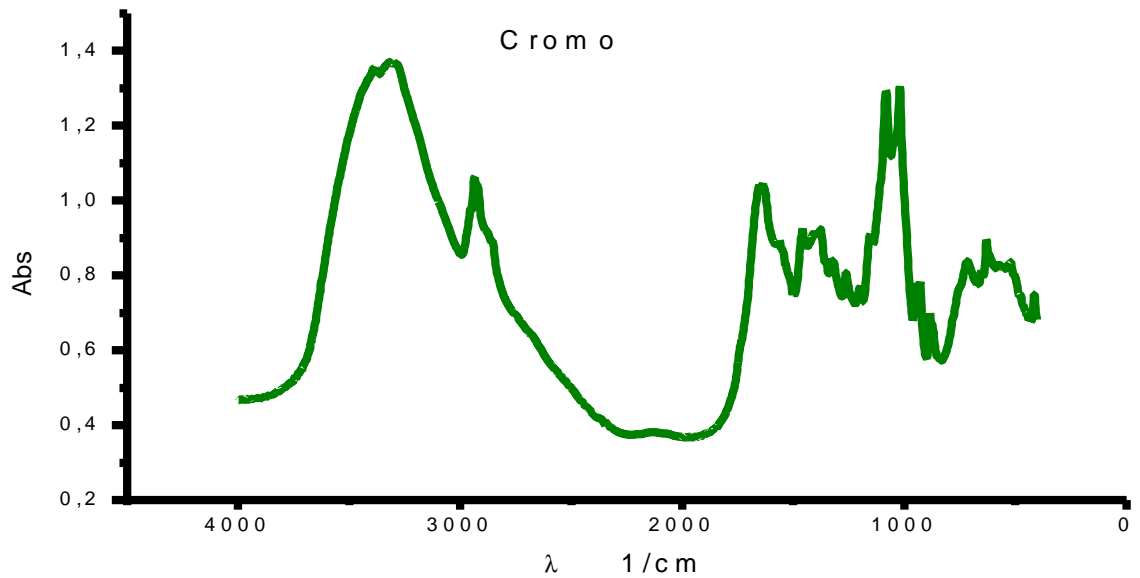


Fig. 24 – Espectros FTIR para basidiocarpos contaminados com cromo para o experimento 4.



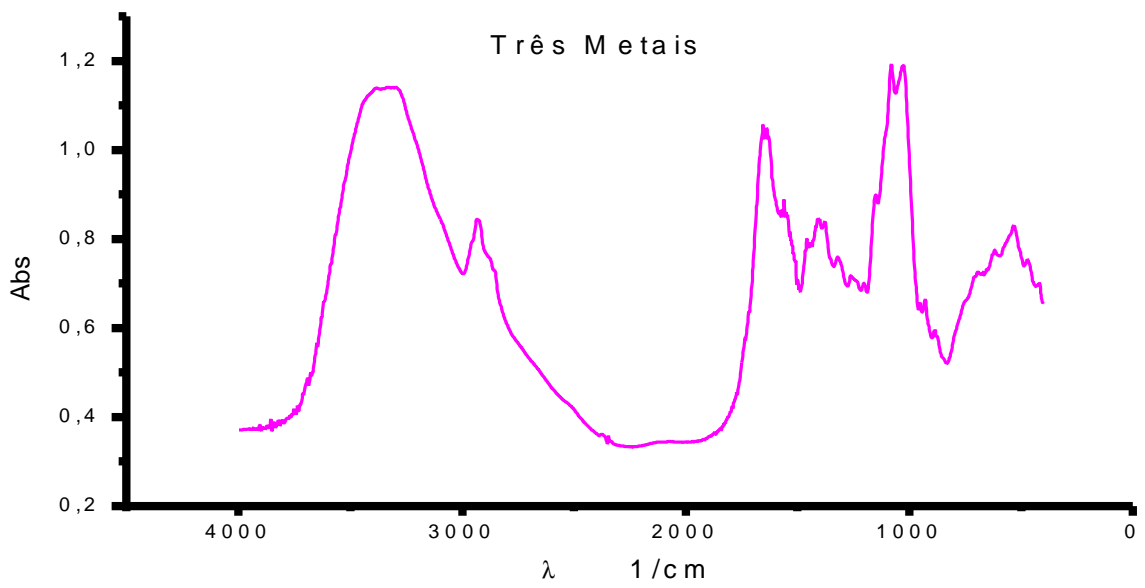


Fig. 25 – Espectros FTIR para basidiocarpos contaminados com os três metais para o experimento 4.

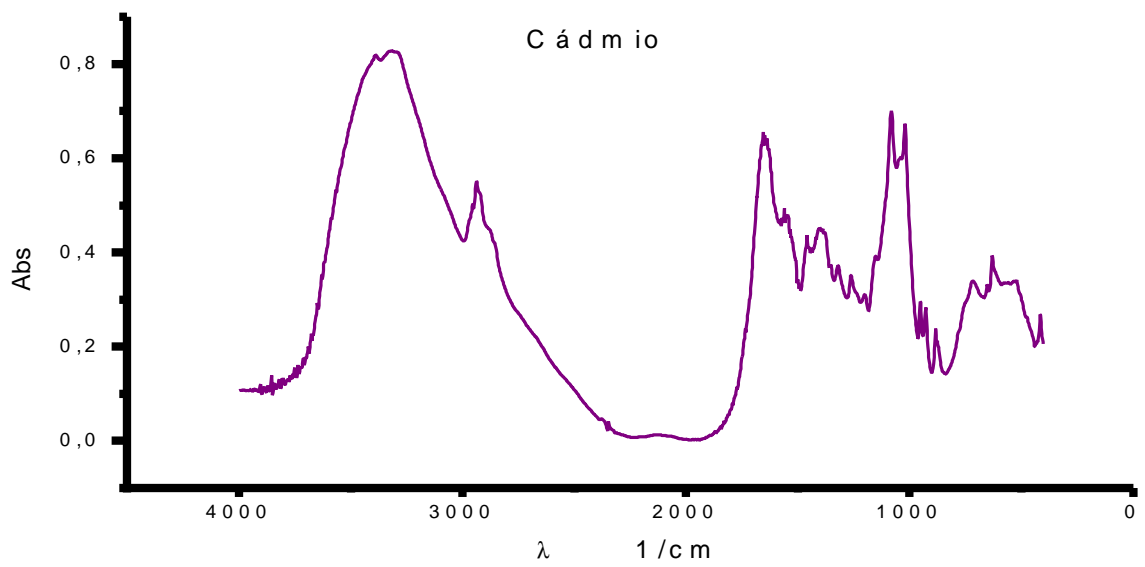


Fig. 26 – Espectros FTIR para basidiocarpos contaminados com cádmio para o experimento 4.

## ANEXO I

O modo como foram calculadas as quantidades totais de metais pesados disponíveis pra absorção/adsorção de *Agaricus blazei* seguem abaixo:

Para um determinado metal do tratamento controle:

$$= \frac{A \times [\text{metal no solo}] + B \times [\text{metal no composto}]}{\text{Total de metal disponível para absorção/adsorção}}$$

onde:

A é a quantidade de solo utilizada (12.000 g);

B é a quantidade de composto utilizada (10.000 g) e

[ ... ] representa concentração.

Para os outros tratamentos adiciona-se o valor denominado aditivo ao total de determinado metal disponível para absorção/adsorção.

## ANEXO II

Utilização de *A. blazei* contra o câncer

*A. blazei* Murill (ABM) é um fungo basidiomiceto que vem despertando a curiosidade da comunidade científica devido a sua aplicação na medicina popular. O chá e o extrato são usados como suplemento alimentar para ativar o sistema imune, abaixar o mau colesterol, como antioxidante, para aliviar o estresse físico e emocional, além de melhorar a qualidade de vida do diabético.

*A priori* essas seriam as aplicações usuais do fungo, porém atualmente esse microrganismo está sendo aplicado como coadjuvante no tratamento do câncer. O benefício da aplicação de *A. blazei* no tratamento dessa doença não é consensual, pois os estudos realizados até agora são insuficientes para determinar os possíveis efeitos no organismo e de que forma o fungo deveria ser administrado.

Os estudos atuais mostram que vários tipos de extratos de *Agaricus blazei* exibem atividade antimutagênica e antigenotóxica. Essa atividade protegeria o DNA contra alguns tipos de dano.

*A. blazei* apresenta em sua composição várias substâncias benéficas ao organismo como proteínas, carboidratos, fibras, lipídios, vitaminas e principalmente ergosterol e ácido linolêico.

Até agora o que é sabido é que ação do fungo contra o câncer não está na ação direta contra as células cancerosas e sim na estimulação do sistema imune, que gera um aumento na produção de vários tipos células de defesa.

LUIZ et al. (2003) testaram em hamster chinês o potencial clastogênico e anticarcinogênico de extratos orgânicos de *A. blazei* (ABM). Foram feitos extratos etanólicos e clorofórmio/metanol, usados em animais selvagens e mutantes com reparo de DNA deficiente.

Os autores analisaram a frequência de aberrações cromossômicas e a permuta de cromátides irmãs, nenhum tipo de extrato apresentou efeito clastogênico e os dois tipos mostraram atividade antimutagênica com redução das lesões em cromátides e isocromátides no animal selvagem.

Os resultados também indicaram a ausência do efeito protetor em células deficientes no reparo, evidenciando que o mecanismo protetor poderia ser cancelado pela ausência da proteína formadora de dímero estabilizador das terminações livres do DNA.

O efeito do extrato aquoso de ABM sobre a produção de anticorpos foi investigada por NAKAJIMA et al. (2002) através do método *hemolytic plaque-forming* (PFC) contra antígenos SRBC em ratos. Os animais receberam intraperitonealmente o extrato aquoso e SRBC (antígeno de células vermelhas de carneiro) ou no caso do controle o PBS (*physiological buffered saline*), posteriormente examinou-se a expressão de RNAm IL-1 $\beta$  e IL-6 para investigação de como o número de PFC foi aumentado. Os resultados mostraram aumento de três vezes no número de PFC, embora o número de células esplênicas não tenha apresentado diferença entre o grupo tratado e o grupo controle. Verificou-se também o aumento na produção de RNAm de macrófagos peritonias. O aumento da produção de anticorpos pelo extrato pode induzir a produção de IL-1 $\beta$  e IL-6 de células T ativadas e macrófagos, resultando na diferenciação de células B.

Duas substâncias (A<sub>1</sub> e A<sub>2</sub>) com propriedades antiangiogênicas foram isoladas do extrato de ABM por KIMURA et al. (2004) e testadas para avaliar seu efeito antitumoral e antimetastático. As substâncias eram administradas subcutaneamente juntamente com um agente carcinogênico (matrigel) em várias concentrações tanto de um como do outro. Os resultados mostraram que o peso final do tumor e o número de metástases foram diminuídos após a administração oral de A<sub>1</sub>. Houve ainda aumento do número de apoptoses das células tumorais e aumento das invasões por células T, CD8 e Natural Killer (NK) da área central do tumor.

TAKAKU et al. (2001) isolaram da fração lipídica de ABM o ergosterol para verificar seus efeitos sobre a neovascularização de tumores. Matrigel foi usado como indutor da neovascularização e foi introduzido subcutaneamente com e sem ergosterol para testar os possíveis efeitos sobre a neovascularização.

Verificou-se a inibição da neovascularização devido à ação direta do ergosterol sobre a angiogênese. A fração lipídica de ABM foi examinada quanto à atividade antitumoral; várias substâncias foram isoladas e testadas com sarcoma-180 em ratos, mostrando redução do crescimento tumoral.

A atividade antitumoral do ergosterol foi testada sobre a angiogênese induzida por tumores LLC (*Lewis lung carcinoma*). Os resultados mostram a inibição da neovascularização após a administração intraperitoneal em doses 5, 10 e 20 mg/kg durante 5 dias em ratos.

O teste com células sarcoma-180 é muito empregado para detectar se determinada substância tem propriedades antimutagênicas. LEE et al. (2003) verificou a inibição do crescimento do sarcoma-180 em ratos após a administração oral de ABM. O modelo de inoculação de células cancerosas provou ser eficiente para testar a atividade antitumoral de fungos basidiomicetos.

O chá de ABM foi testado para possíveis efeitos antígenotóxicos e genotóxicos contra ciclofosfamida, fármaco citotóxico alquilante usado no tratamento contra o câncer. COSTA e NAPUCENO (2004) usaram o teste da mancha da asa da *Drosophila melanogaster* (SMART), observando a frequência total de manchas na associação de ABM com ciclofosfamida. *A. blazei* não apresentou atividade genotóxica e não exerceu efeito protetor contra o agente, pois não houve redução das frequências das manchas. O autor sugere que o chá do cogumelo protege as células contra a ação precoce da ciclofosfamida, porém não impede que seus descendentes sejam afetados pelo fármaco.

Em outro trabalho, COSTA e NAPUCENO (2001) testou os efeitos de ABM contra um agente genotóxico para verificar se *Agaricus blazei* exerce algum efeito sobre a associação, uretano/ABM. O teste usado foi o SMART, observando os cruzamentos e a frequências das manchas.

Os resultados mostraram, diferentemente do experimento anterior, que o agente químico apresenta efeito genotóxico e que o chá de ABM exerce efeito protetor contra o uretano.

Outro agente genotóxico foi testado com o extrato aquoso de ABM. BELLINI et al. (2003) usaram o metilmetanosulfonato (MMS) em células ovarianas de hamster chinês (CHO-K1) juntamente com o extrato aquoso de ABM, feito em três diferentes temperaturas, para verificar se o fungo tem atividade protetora. Os autores usaram o fungo em duas fases do desenvolvimento do corpo de frutificação, uma fase jovem e outra esporulada.

Os extratos e as células tratadas com MMS foram consorciadas e for fim analisadas quando ao tipo e número de aberrações cromossômicas.

O efeito anticlastogênico ficou evidente em ambas as linhagens, mostrando que houve proteção do DNA contra danos. O extrato feito com cogumelos mais jovens mostrou-se mais efetivo na redução do dano em relação àquele feito com corpos de frutificação em fase mais avançada do desenvolvimento. Os autores sugerem ainda que o fungo protege as células nas fases G<sub>1</sub> e S do ciclo celular, pois o MMS produziu quebra de isocromátides nestas fases do ciclo celular.

O efeito genotóxico de ABM foi testado em células de mamíferos através do aumento da frequência dos testes de micronúcleos e cometa. Os diferentes tipos de extratos foram testados em células binucleadas e V79 contra MMS. Verificou-se a ausência do efeito genotóxico de ABM em todos os tipos de extratos. O teste do micronúcleo mostrou que as três formas de extrato tiveram atividade protetora e os autores sugerem a presença de atividade antimutagênica do tipo desmutagênica, que age inativando as genotoxinas ou seus precursores.

Outros tipos de extratos foram feitos por OHNO et al. (2001) com a finalidade de isolar diferentes tipos de substâncias com atividade antitumoral. Foram preparados três tipos de extratos neste experimento, um com água quente, outro com NaOH frio e o último com NaOH quente, com o intuito de separar a fração polissacarídica e analisá-la para possível atividade antitumoral. Os extratos passaram por vários tipos de tratamentos a fim de demonstrar o componente ativo. A parte isolada dos extratos foi 1,3- $\beta$ -glucana e verificou-se que a ação desta fração foi significativamente maior nos extratos feitos com NaOH, assim como a atividade antitumoral contra a forma sólida de sarcoma – 180.

Os autores sugerem que a molécula central da atividade antitumoral é 1,3- $\beta$ -glucana, embora o principal carboidrato de *Agaricus blazei* seja 1,6- $\beta$ -glucana.

MENOLI et al. (2001) usaram várias linhagens de *Agaricus blazei* AB 96/07, AB 96/09 e AB 97/11 para avaliar a atividade antimutagênica e mutagênica dos chás do fungo. Os testes usados foram o cometa e o micronúcleo para célula de hamster chinês V79.

Os chás tinham três diferentes concentrações (0.05; 0.1; 0.15%) e foram preparados em três diferentes temperaturas: A- 20 a 20<sup>o</sup>C (ambiente); B- 2 a 8<sup>o</sup>C (frio) e C- 60<sup>o</sup>C (quente). O agente mutagênico usado, MMS, foi aplicado conjuntamente a ABM em três situações: co-tratamento; pré-tratamento e pós-tratamento.

Os resultados mostraram que o fungo é um eficiente antimutágeno contra MMS. Caracterizou-se a ação protetora contra o dano do DNA em todos os tipos de extratos e concentrações.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)



[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)